



НАВЧАЛЬНІ
ВИДАННЯ

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

ЧАСТИНА II

Навчальний посібник



Київ 2024

**Прилуцька С.В., Бабицький А.І., Нестерова Н.Г.,
Ткаченко Т.А., Бойко О.А., Дашенко А.В.**

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

ЧАСТИНА II

Навчальний посібник

Київ 2024

УДК 581.1(075)

Ф 51

*Рекомендовано до видання рішенням вченої ради
Національного університету біоресурсів і природокористування України
Протокол № 3 від 27 вересня 2024 року*

Рецензенти:

Кляченко О.Л., доктор сільськогосподарських наук, професор, професор кафедри екобіотехнології та біорізноманіття Національного 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 рослин Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Ф 51 Фізіологія рослин : навчальний посібник / С.В. Прилуцька, А.І. Бабицький, Н.Г. Нестерова, Т.А. Ткаченко, О.А. Бойко, А.В. Дащенко – Київ: НУБІП України, 2024. – 215 с.

ISBN 978-617-8368-56-2

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 «Водний режим рослин», «Дихання рослин», «Системи регуляції у рослин», «Ріст і розвиток рослин», «Фізіологія виділення речовин» та «Резистентність рослин та окисний стрес». Для покращення засвоєння теоретичного і практичного матеріалу й 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 спеціальністю 162 «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., Бойко О.А., Дащенко А.В.
2024

© НУБІП України, 2024

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), 101 стаття 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 посібника. Наукові інтереси пов'язані з вивченням біологічних властивостей наноматеріалів та їх використання у біомедицині та агротехнологіях. Електронна адреса: physiol.biochem2021@gmail.com



Бабицький Андрій Ігорович

Кандидат біологічних наук, доцент кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики. 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. Викладає дисципліни «Біометрія», «Вторинний метаболізм рослин», «Фізіологія рослин», «Фізіологія рослин з основами біохімії». Автор та співавтор понад 75 наукових праць, серед яких 2 монографії, 7 навчально-методичних рекомендацій. Наукові інтереси пов'язані із вивченням фізіологічних 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», «Біологія клітини», «Біобезпека», «Біоенергетичні основи біотехнологічних процесів», «Фізіологія рослин з основами біохімії». Автор та співавтор понад 70 наукових праць, в тому числі 4 монографій, 2 підручників, 2 навчальних посібників, 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



Бойко Ольга Анатоліївна

Доктор біологічних наук, доцент. Випускниця кафедри ботаніки біологічного факультету Київського університету ім. Т.Г. Шевченка. Доцент кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики Національного університету біоресурсів і природокористування. Викладає дисципліни «Фізіологія рослин», «Основи функціонування біологічних систем», «Промислове культивування грибів та водоростей», «Клітинний сигналінг». Автор та співавтор понад 100 наукових праць, серед яких 2 монографії, 2 статті представлені у наукометричних базах Scopus та Web of Science, 8 патентів України на винахід та корисну модель., 2 навчальних посібника. Наукові інтереси пов'язані з вивченням сучасних біоорганічних композицій – стимуляторів росту і розвитку рослин на основі базидієвих грибів.

Електронна адреса: physiol.biochem2021@gmail.com



Дащенко Анна Валеріївна

Кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри фізіології біохімії рослин та біоенергетики НУБіП України. Викладає дисципліни “Фізіологія рослин з основами біохімії”, “Біологія лікарських рослин”. Автор та співавтор понад 85 наукових праць, з яких 1 монографія. Наукові інтереси пов'язані з вивченням вірусних хвороб рослин.

Електронна адреса: dannaval@ukr.net

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ	9
ПЕРЕДМОВА	10
РОЗДІЛ 1 ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН	11
<i>Тема 1.1. Значення води в життєдіяльності рослин</i>	11
<i>Тема 1.2. Вода: структура, властивості</i>	12
<i>Тема 1.3. Природа надходження в рослинну клітину води</i>	12
<i>Тема 1.4. Рослинна клітина – осмотична система</i>	14
<i>Тема 1.5. Форми води в ґрунті</i>	16
<i>Тема 1.6. Нижній кінцевий двигун води в рослині (НКД)</i>	20
<i>Тема 1.7. Верхній кінцевий двигун води в рослині (ВКД)</i>	27
<i>Тема 1.8. Екологічні групи рослин</i>	32
Лабораторна робота №1 Оцінка стану продихів методом інфільтрації (за Молішем)	32
Лабораторна робота №2 Визначення здатності перерозподілу калію у зв'язку з рухом продихових клітин	34
Лабораторна робота №3 Вивчення тургору рослинної клітини. Поглинання води та її вихід із клітин коренеплоду моркви	36
Лабораторна робота №4 Спостереження за рухом продихів.....	37
РОЗДІЛ 2 ДИХАННЯ РОСЛИН	40
<i>Тема 2.1. Загальне поняття про дихання у рослин</i>	40
<i>Тема 2.2. Основний шлях дихання</i>	45
<i>Тема 2.3. Альтернативні шляхи окиснення субстратів дихання</i>	65
Лабораторна робота № 5 Якісні реакції на ензими окисних електронтранспортних ланцюгів	84
Лабораторна робота № 6 Визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеного вуглекислого газу	86
Лабораторна робота № 7 Визначення активності пероксидази у соку бульб картоплі.....	88
РОЗДІЛ 3 СИСТЕМИ РЕГУЛЯЦІЇ У РОСЛИН	90

<i>Тема 3.1. Ріст і розвиток рослин</i>	90
<i>Тема 3.2. Фітогормони, їх роль у регуляції росту і розвитку рослин</i>	95
Лабораторна робота № 8 Вивчення апікального домінування в рослинах	116
Лабораторна робота № 9 Вивчення дії індоліл-3-оцтової кислоти на рослини	117
Лабораторна робота № 10 Вивчення розподілу ауксинів у рослині гістохімічним методом.....	118
Лабораторна робота № 11 Дослідження впливу ІОК на утворення коренів у живців	119
Лабораторна робота № 12 Виявлення впливу гіберелінів на процес проростання насіння.....	120
Лабораторна робота № 13 Спостереження за фізіологічними ефектами цитокініну	121
Лабораторна робота № 14 Дослідження антагоністичних взаємовідносин цитокініну та АБК	122
Лабораторна робота № 15 Дослідження впливу етилену на процеси росту рослин.....	123
Лабораторна робота № 16 Дослідження життєздатності насіння за Гуревичем.....	124
Лабораторна робота № 17 Дослідження перетворень запасних речовин у насінні при його проростанні	125
Лабораторна робота № 18 Дослідження геотропічної реакції рослин	126
РОЗДІЛ 4 РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН	128
<i>Тема 4.1. Фази росту</i>	128
<i>Тема 4.2. Вимірювання росту рослин</i>	139
<i>Тема 4.3. Вплив зовнішніх чинників на ріст рослин</i>	143
<i>Тема 4.4. Розвиток рослин</i>	158
Лабораторна робота № 19 Визначення зон росту в органах рослин.....	166
Лабораторна робота № 20 Визначення зони росту стебла.....	167
РОЗДІЛ 5 ФІЗІОЛОГІЯ ВИДІЛЕННЯ РЕЧОВИН	169

<i>Тема 5.1. Класифікація рослинних виділень.</i>	
<i>Поняття про секрецію та екскрецію та механізми виділення</i>	169
<i>Тема 5.2. Внутрішні і зовнішні видільні структури</i>	169
Лабораторна робота № 21 Виявлення гутти, каучуку та алкалоїдів.....	181
Лабораторна робота № 22 Перетворення запасних речовин у пагонах деревних рослин у зимовий період.....	182
РОЗДІЛ 6 РЕЗИСТЕНТНІСТЬ РОСЛИН ТА ОКИСНИЙ СТРЕС	185
<i>Тема 6.1. Окисний стрес та його наслідки.....</i>	185
<i>Тема 6.2. Шляхи і механізми утворення активних форм кисню у клітині.....</i>	190
<i>Тема 6.3. Антиоксидантна захисна система.....</i>	193
Лабораторна робота № 23 Визначення вмісту супероксидних аніон радикалів.....	195
Лабораторна робота № 24 Визначення вмісту АФК за використання флуоресцентного зонду.....	196
Лабораторна робота № 25 Визначення вмісту NO у проростках гороху.....	198
Лабораторна робота № 26 Визначення активності каталази у проростках гороху	201
Лабораторна робота № 27 Визначення активності аскорбатпероксидази у проростках гороху	204
Лабораторна робота № 28 Визначення активності супероксиддисмутази у проростках гороху	206
Лабораторна робота № 29 Визначення вмісту ТБК-активних продуктів у проростках гороху	208
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	212

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

АБК – абсцизова кислота
АДФ – аденозиндифосфат
АМФ – аденозинмонофосфат
АО – антиоксидант
АТФ – аденозинтрифосфат
АФК - активні форми кисню
ВТ – відносна транспірація
ДЕТЛ – дихальний електрон-транспортний ланцюг
ІТ – інтенсивність транспірації
КВ – коефіцієнт водоспоживання
НАДФ – нікотинаміддинуклеотидфосфат
НКД – нижній кінцевий двигун
НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид
НСТ – нітросиній тетразолій
МДА – малоновий диальдегід
ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів
ПТ – продуктивність транспірації
СОД – супероксиддисмутаза
ТБК – тіобарбітурова кислота
ТК – транспіраційний коефіцієнт
ТХО - трихлороцтова кислота
Шлях ЕМП – Шлях Ембдена–Мейергофа–Парнаса
ФАД – флавінаденіндинуклеотид
ФБ – фосфатний буфер
ФМС - феназинметасульфат
DCFH-DA – 2,7-дихлордигідрофлуоресцеїн діацетат
NO – оксид нітрогену
P – осмотичний тиск
S – сисна сила
T – тургорний тиск

ПЕРЕДМОВА

Фізіологія рослин (*physis* – природа та *logos* – вчення) – це наука про життєдіяльність рослин. Цілями вивчення курсу «фізіології рослин» є формування уявлення про рослину як про цілісну саморегуляторну систему, що активно розвивається; знання фізіологічних процесів фотосинтезу, дихання, росту та розвитку, механізму стійкості та адаптації до стресорів, перетворення та транспорту речовин, біохімічних основ регуляції; основ водного режиму рослин, повітряного та мінерального живлення, онтогенетичного розвитку та адаптації рослин до нових умов середовища, раціонального використання природних ресурсів тощо. В процесі опрацювання дисципліни студенти повинні знати особливості основних фізіолого-біохімічних процесів життєдіяльності рослин, принципи їх регуляції; закономірності взаємозв'язку фізіологічних процесів усередині організму з чинниками навколишнього середовища; сучасні методи та засоби використання фізіологічних процесів рослин; закономірності росту та розвитку рослин, а також можливості управління ними; практичні прийоми підвищення продуктивності рослин та їх стійкості до екстремальних чинників середовища.

Навчальний посібник «Фізіологія рослин» Ч.2 є логічним продовженням навчального посібника «Фізіологія рослин» Ч.1 і складається із шести розділів: «Водний режим рослин» (Бойко О.А.), «Дихання рослин» (Бабицький А.І), «Системи регуляції у рослин» (Ткаченко Т.А.), «Ріст і розвиток рослин» (Дащенко А.В.), «Фізіологія виділення речовин» (Нестерова Н.Г.) та «Резистентність рослин та окисний стрес» (Прилуцька С.В.).

У навчальному посібнику «Фізіологія рослин» Ч.2 до кожного розділу наведено основний теоретичний матеріал, оформлено відповідні лабораторні роботи, загальна кількість яких складає 29. Після кожного розділу наведено фактичний перелік питань для аналізу та самоконтролю.

Підготовлений навчальний посібник «Фізіологія рослин» Ч.2 є оригінальним навчальним виданням, оформлений для фахівців-біотехнологів і має на меті сформуванню у студентів комплексне розуміння фізіологічних процесів, що протікають у рослинних біосистемах різних рівнів організації.

РОЗДІЛ 1

ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН

Тема 1.1. Значення води в життєдіяльності рослин

Вода є необхідною умовою існування всього живого, оскільки без неї організм гине або впадає в стан анабіозу. Вміст води в рослинних клітинах сягає 70-90% і неоднаковий для різних органів рослин (наприклад, у листках мезофітів - 85% і більше, тоді як в коренях – до 99% від сирової маси).

Значення води в процесі життєдіяльності визначається також і тим, що вона є основним середовищем клітини, де здійснюються біохімічні процеси. Крім того, вода, як хімічна сполука, безпосередньо приймає участь у таких важливих реакціях, як гідроліз, синтез, окиснювально-відновні реакції.

Вміст води залежить від виду, віку рослин, умов довкілля, кількості ґрунтової вологи доступної для рослин, інтенсивності транспірації і т.п. Рослина, для свого нормального існування повинна містити певну кількість води, в середньому 75–80 % маси рослинної тканини. Вода є субстратом для асиміляції вуглецю рослиною в процесі фотосинтезу та одним із продуктів дихання.

У житті рослини вода відіграє велику роль, оскільки мінеральні поживні речовини ґрунту поглинаються корінням з розчинів, сприяє охолодженню рослин та оберігає їх від перегріву у спеку, обумовлює тургесцентний стан клітинних оболонок, що, забезпечує пружність рослинних тканин.

Роль води в організмі визначається певними особливостями, а саме: вона має високу теплопровідність, але нижчу, порівняно з металами; має здатність випаровуватися за будь-якої температури, навіть нижче 0°C; на підвищення температури води витрачається значно більша кількість енергії; вода має надзвичайно високий поверхневий натяг і поступається тільки ртуті, що має велике значення для адсорбційних процесів та для руху розчинів по тканинах, для різноманітних біохімічних, фізико-біохімічних процесів, які відбуваються в рослинних організмах; пропускає промені видимої частини спектру та близької до неї ультрафіолетової області, що має велике значення для фотосинтезу. Крім того, молекула води має різко виражену властивість полярності, яка обумовлює явище гідратації, властиве більшості хімічних сполук.

Важливою фізичною характеристикою води є надзвичайно її висока діелектрична проникність, яка характерна для речовин, що містять молекули з сильно вираженими полярними властивостями. До таких речовин відноситься і вода.

Частина води в клітині є хімічно зв'язаною, тоді як інша – перебуває у вільному стані як розчинник чи дисперсійне середовище в колоїдній фазі цитоплазми.

Протоплазматична мембрана клітин коренів має високу проникність. Внутрішньоклітинна вода у молодих коренів (до 3/4) міститься у вакуолях, в клітинних оболонках (1/4) і в цитоплазмі (1/20).

Функції води в клітині:

1. Бере участь у підтриманні структури клітини;
2. Слугує розчинником і середовищем для дифузії;
3. Середовище і продукт біохімічних процесів (реакції гідролізу, окиснювально-відновні реакції);
4. Регулює швидкість обміну речовин;
5. Забезпечує транспорт речовин як у клітині, так і між клітиною та оточуючим середовищем.

Тема 1.2. Вода: структура, властивості

Структура води перебуває в трьох агрегатних станах: твердий; кристалічний (лід); некристалічний (склоподібний). Некристалічний утворюється при заморожуванні і не пошкоджує живі клітини.

Фізичні властивості води. Максимуму своєї густини вода досягає при температурі +4°C. В процесі замерзання об'єм води зростає на 11%. За 1 атм тиску – точка замерзання і кипіння становить 0 °C і 100 °C відповідно. За умови підвищення тиску – температура кипіння починає зростати, при цьому температура замерзання знижується. Питома теплота плавлення води становить 333,55 кДж/кг, а питома теплота пароутворення 2250 кДж/кг. Вода в рідкому стані має високу теплоємність. Такі властивості води дозволяють захищати рослинний організм від різких перепадів температури. На терморегуляцію впливають високі значення теплоти пароутворення, показники температури плавлення і кипіння, а також висока теплоємність.

Тема 1.3. Природа надходження в рослинну клітину води

В основі життєдіяльності рослини є обмін речовин, її органів, клітин і клітинних компонентів. Клітини рослин поглинають речовини із сусідніх клітин і оточуючого середовища і одночасно віддають речовини, що в ній утворюються, іншим клітинам, а також в оточуюче середовище.

В процесах поглинання і виділення води клітиною відіграють такі явища, як дифузія і осмос.

Дифузія (лат. *diffusio* – поширення, розтікання) – процес перенесення речовин, який зумовлений вирівнюванням його концентрації у первинній неоднорідній системі. Такими системами виступають розчини.

Розчин – це однорідна суміш, що складається з молекул розчинника і частинок розчиненої речовини між якими відбуваються хімічні або фізичні взаємодії.

Складовими частинами будь-якого розчину є розчинник і розчинена речовина.

Зазвичай розчинником виступає речовина, яка має однаковий агрегатний стан з розчином. Іншими складовими розчину є розчинені речовини.

Дифузія забезпечується наявністю кінетичної енергії у частинок, яка викликає їхній безперервний рух. Хімічний потенціал – це вільна енергія 1 моля речовини. Таким чином, для будь-яких розчинів характерними є як мінімум два хімічних потенціалу, а саме: *потенціал розчинника* та *потенціал розчиненої речовини*. Хімічний потенціал чистої води – це водний потенціал.

В рослинному організмі розчинником виступає вода. Такі розчини мають водний і хімічний потенціал. У випадку, коли концентрація розчину нижча, то меншим є його хімічний потенціал і більший водний потенціал. Ці величини є взаємооберненими. Найвищий водний потенціал має дистильована вода, тоді як найвищий хімічний потенціал – концентрований розчин.

Процес дифузії направлений від більшої концентрації речовини до меншої, від системи, що має вищу вільну енергією до системи з нижчою вільною енергією. Дифузія залежить також від градієнта концентрації. При розміщені напівпроникної мембрани, пори якої менші молекул розчинених речовин, пропускають тільки воду, на межі двох розчинів. Розчини, що мають однакові концентрації, внаслідок ідентичних водних потенціалів з обох сторін мембрани, молекули води будуть дифундувати крізь мембрану з однаковою швидкістю і в обох напрямках. Таке проходження називається осмосом.

Для того, щоб активність руху молекул розчинника була однаковою в обох частинах системи необхідно до розчину додати певний тиск. Отже, тиск, який перевищує активність молекул розчинника (води) і вирівнює швидкість їх руху в обох напрямках, називається осмотичний потенціал, або осмотичний тиск.

Осмос – це проходження розчинника крізь напівпроникну мембрану, а систему, у якій два осмотичною системою. розчина розділені напівпроникною мембраною називають. Якщо з одного боку напівпроникної мембрани змінюється концентрація розчину, то виникає осмотичний тиск.

Осмотичний тиск (надлишковий гідростатичний тиск). Явище, обумовлене наявністю напівпроникної мембрани, яка розділяє розчини.

Розчинником виступає частина системи (одного розчину), хімічний потенціал якої є нижчим за хімічний потенціал іншої (другого розчину). Чистий розчинник (вода) виходитиме з нього у розчин (частину системи з вищим хімічним потенціалом).

Визначення потенціального осмотичного тиску (P):

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

C – концентрація розчину в молях;

T – абсолютна температура;

R – газова стала;

i – ізотонічний коефіцієнт (залежить від електrolітичної дисоціації).

Осмотичний тиск визначається концентрацією частинок (молекул, іонів) розчиненої речовини (для розведених розчинів і при постійній температурі) - виражається в Па, показує можливий тиск, який має розчин даної концентрації.

Тема 1.4. Рослинна клітина – осмотична система

Клітина рослини – це типова осмотична система в якій протопласт відіграє роль напівпроникної оболонки, а осмотично-діяльним є клітинний сік. Розчином виступає клітинний сік вакуолі, розчинником – оточуюче водне середовище, а функцію напівпроникної мембрани виконує протопласт, а саме система його мембран, особливо – плазмалема і тонопласт.

Розглядаючи клітину, як осмотичну систему, розчинник прийнято називати розчином, який стосовно клітинного соку може бути трьох типів:

Гіпертонічний – має вищу концентрацію осмотично-активних речовин на відміну від клітинного соку та вищий хімічний потенціал, тобто, по суті, є розчином, а не розчинником.

Гіпотонічний – має нижчу концентрацію осмотично-активних речовин, порівняно з клітинним соком та вищий водний потенціал.

Ізотонічний – концентрація такого розчину дорівнює концентрації клітинного соку.

Якщо помістити клітину у гіпертонічний розчин, то вода, рухаючись за градієнтом концентрації у напрямку тієї частини системи, де її кількість менша, виходитиме з клітини в розчин. Внаслідок цього внутрішній об'єм протопласту зменшиться і спостерігатиметься відставання його від клітинної оболонки. Таке явище називається *плазмоліз*.

Плазмоліз – це відокремлення протопласту від клітинної оболонки внаслідок втрати ним води за рахунок осмосу, що відбувається в гіпертонічному розчині.

Якщо клітину після плазмолізу помістити в гіпотонічний розчин, то спостерігатиметься зворотне явище – поступове повернення протопласту в попередній стан, що отримало назву *деплазмолізу*.

При поміщенні клітини в ізотонічний розчин, дифузія води відбуватиметься в обох напрямках з однаковою швидкістю, а змін протопласту не спостерігатиметься.

Осмотичними показниками рослинної клітини є Р,Т,S (осмотичний тиск, тургорний тиск і сисна сила).

При зануренні плазмолізованих клітин в чисту воду, остання поступає в клітину без перешкод за градієнтом концентрації. Рослина розвиватиме певну *сисну силу*, значення якої буде рівним *осмотичному тиску*. Внаслідок надходження води в клітину, об'єм вакуолі зростає, клітинний сік давить на протопласт і він пристає до оболонки.

Клітинна оболонка чинить певну протидію подальшому збільшенню об'єму протопласту з вакуолею і розвиває тургорний тиск. За рахунок

виникнення якого зменшується значення осмотичної сили, що дорівнюватиме різниці осмотичного і тургорного тисків. У випадку, з подальшим надходженням води в клітину, значення тургорного і осмотичного тисків врівноважуються, і вода припиняє надходити в клітину, а осмотична сила дорівнюватиме нулю.

Таким чином, під час осмотичного переміщення води в рослинній клітині виникатиме три показники, що корелюють від обводнення клітини. Це:

Осмотичний тиск (P) – надлишковий гідростатичний тиск гіпотонічного розчину (діє на клітинний сік, що відокремлений від нього протопластом).

Осмотична сила (S) – сила, з якою рослинна клітина поглинає воду.

Тургорний тиск (T) – тиск протопласта на клітинну оболонку. Виникає внаслідок надходження в клітину води.

Коли рослинна клітина знаходиться в стані плазмолізу співвідношення осмотичних показників становитиме:

$$S = P; T = 0.$$

Після насичення рослинної клітини водою, починає виникати тургорний тиск:

$$S = P - T.$$

При повному насиченні рослинної клітини водою:

$$P = T; S = 0.$$

Отже рослинна клітина є саморегулюючою системою. Об'єм клітини в стані плазмолізу найменший $P = S; T = 0$. Об'єм клітини в стані повного насичення водою найбільший, осмотичний тиск дещо менший (оскільки в клітинний сік поступає вода, зменшує його концентрацію і він стає рівним тургорному тиску, а $S = 0$).

Підвищення концентрації розчинених речовин викликає збільшення осмотичного тиску і зменшення активності води. В клітині, повністю насиченій водою, енергетичний потенціал соку максимальний, тобто дорівнює потенціалу вільної води або розчину навколо клітини та не залежить від осмотичного тиску в клітині.

В окремих випадках осмотична сила клітини може бути вище осмотичного тиску. Слід відмітити, що при в'янні рослин плазмоліз в клітині не спостерігається. Протопласт таких клітин зменшується в об'ємі, проте не відділяється від оболонки, а тягне її за собою. Зовнішньо це проявляється в утворенні на поверхні клітин хвилеподібних вигинів. Це явище називають циторизом. В клітинах в'ялих рослин тургорний тиск менше нуля, тобто стає негативною величиною, за рахунок того, що при цитолізі діють сили пружності клітинної оболонки, які у зів'ялих клітин розтягують протопласт, а не здавлюють його. Таким чином, осмотична сила таких клітин дорівнює сумі тиску осмотичного і тургорного:

$$S = P + T, \text{ так як в даному випадку } S = P - (-T).$$

Встановлено, що сила циторизу – сила розтягнення протопласту клітинної оболонки – може сягати 1010-1015 кПа

Тема 1.5. Форми води в ґрунті

У рослину вода потрапляє з ґрунту через корінь, а вже у корені вона надходить крізь кореневі волоски – рослинні клітини, що, як відомо є типовими осмотичними системами. Ґрунт – це багатофазне тіло, складається з твердих мінеральних речовин, гумусу, ґрунтового розчину і ґрунтового повітря.

Частина води в ґрунті є недоступною для рослин. Цю воду ще називають зв'язаною водою. Це хімічно зв'язана вода, вода дрібних капілярів, зв'язана силікатами, глинистими мінералами, гумусом (колоїди). Воду у ґрунті утримують сили, які діють на межі розподілу різних фаз.

Вода в ґрунті може бути як доступною для рослин так і недоступною. Форма води у ґрунті буває:

1. *Підґрунтова* – вода, яка, просочуючись у нижні шари ґрунту, накопичується над водонепроникним ґрунтовым горизонтом. Доступна для рослин за умови неглибокого залягання.
2. *Гравітаційна* – заповнює у великих некапілярних порах ґрунту і опускається донизу під дією гравітації. Доступна для рослин.
3. *Капілярна* – заповнює капілярні пори ґрунту й силами поверхневого натягу утримується в них. Доступна для рослин. Капілярна вода поділяється на:
Капілярно-підвішену, яка заповнює капілярні пори при зволоженні ґрунтів зверху. Вода, що знаходиться в промоченому шарі, ніби «висить», не стікає в ґрунтовій товщі над сухим шаром.
Капілярно-підперта, яка утворюється в ґрунтах при підйомі води знизу від горизонту ґрунтових вод по капілярах на деяку висоту і міститься в шарі ґрунту безпосередньо над водоносним горизонтом і гідравлічно з ним зв'язана – «підпирається» водами цього горизонту.
4. *Пароподібна* – це газоподібна вода у складі ґрунтового повітря. Для рослин недоступна.
5. *Плівкова* – вода, що оточує колоїдні частинки ґрунту. Така вода із периферичних шарів гідратаційних оболонок може поглинатися рослиною і є малодоступною.
6. *Гігроскопічна* – газоподібна вода, адсорбована сухим ґрунтом в умовах 95 %-ї вологості повітря, є недоступною для рослин.
7. *Тверда* – це лід, який утворюється за від'ємних температур і є недоступним для рослин.

Олексій Андрійович Роде виділив п'ять ґрунтово-гідрологічних констант, а саме:

I. Максимальна адсорбційна вологоємність (максимальна кількість води, яку ґрунт може утримувати за рахунок сил адсорбції) – це вода недоступна для рослин.

II. Максимальна гігроскопічність (максимальна здатність ґрунту вбирати газоподібну вологу із повітря, відносна вологість якого не нижче 94%) - волога недоступна для рослин.

III. Вологість стійкого в'янення рослин (запас вологи, при якому спостерігається постійне в'янення рослин, яке не зникає і у вологій атмосфері. В ґрунті залишається тільки недоступна для рослин вода. Таку кількість води в ґрунті називають коефіцієнтом в'янення).

IV. Найменша, або польова, вологоємність (НВ) (кількість води, що складається із ґрунтової вологи, крім підґрунтової, гравітаційної та капілярно-підпертої) - це верхня межа доступної рослинам ґрунтової вологи після стікання гравітаційної води.

V. Повна вологоємність (ПВ) (найбільша кількість вологи, яку здатний утримувати ґрунт, коли всі пори (капілярні і некапілярні) заповнені водою і поглинальна здатність ґрунту повністю реалізована).

Шляхи транспортування води в рослині.

Існує два шляхи транспортування води по рослині, це *радіальний* і *вертикальний*.

Радіальний шлях забезпечує надходження води з ґрунту по коренях до провідних пучків і здійснюється по *симпласту* і *апопласту* (рис. 1.1.).

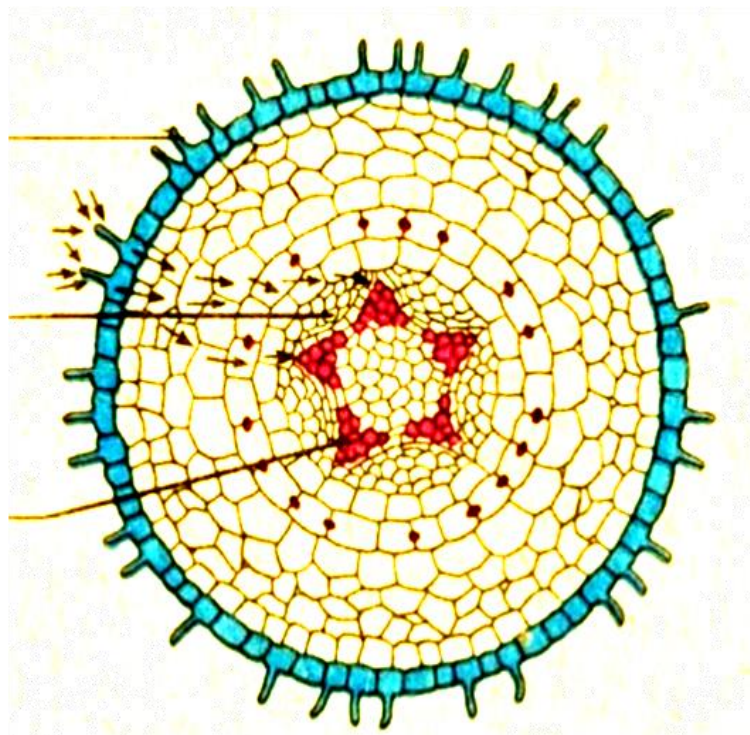


Рис. 1.1. Радіальний шлях транспортування води

Симпласт – це сукупність усіх протопластів тканини, об'єднаних плазмодесмами в цілісну систему.

Апопласт – це позаклітинна структура, представлена сукупністю клітинних оболонок і міжклітинників (рис. 1.2.).

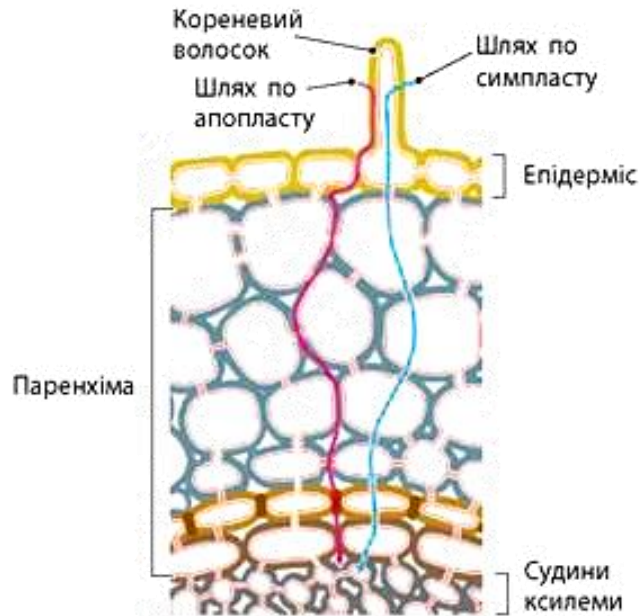


Рис 1.2. Шляхи транспорту води в корені від корневих волосків до судин (симпластний і апопластний шляхи)

<https://uahistory.co/>

Вертикальний шлях забезпечує транспорт води з коренів по стеблу до листків і в зворотньому напрямку. Він поділяється на *висхідний* і *низхідний* (рис. 1.3.).



Рис. 1.3. Вертикальний шлях транспортування води

Висхідний транспорт проходить по *судинах ксилеми* і забезпечує надходження води та розчинених у ній мінеральних речовин з коренів до листків (рис. 1.4.).

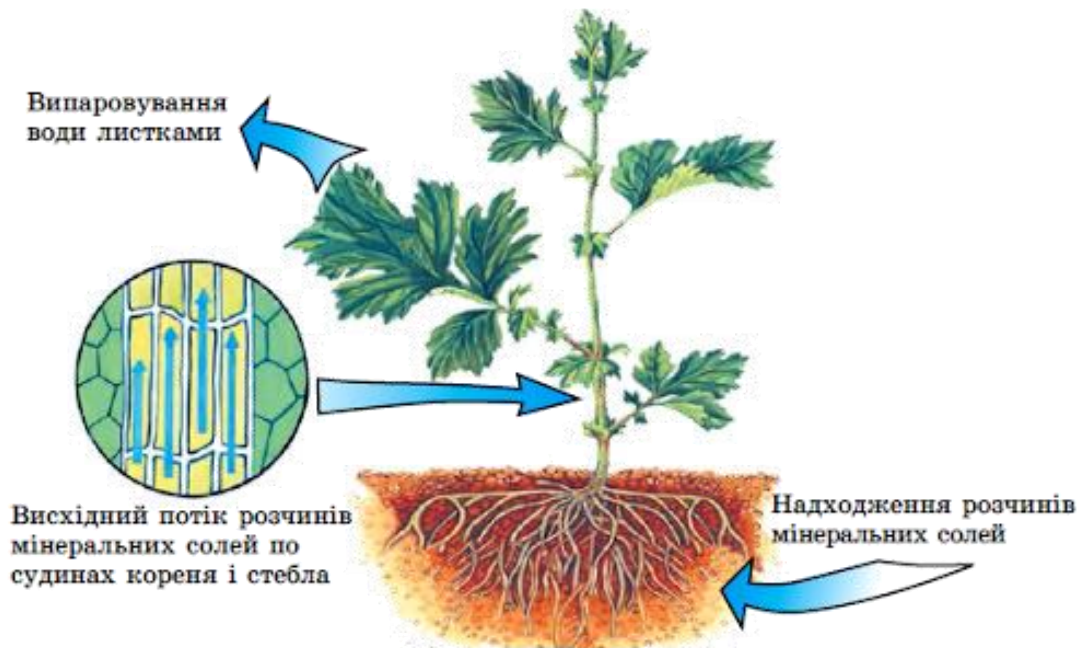


Рис. 1.4. Висхідний (ксилемний) транспорт

<http://8next.com/>

Низхідний транспорт проходить по *ситовидних трубках флоєми* і забезпечує відтік пластичних речовин, що асимілюються в листках, а також їхнє надходження до коренів (рис. 1.5.).

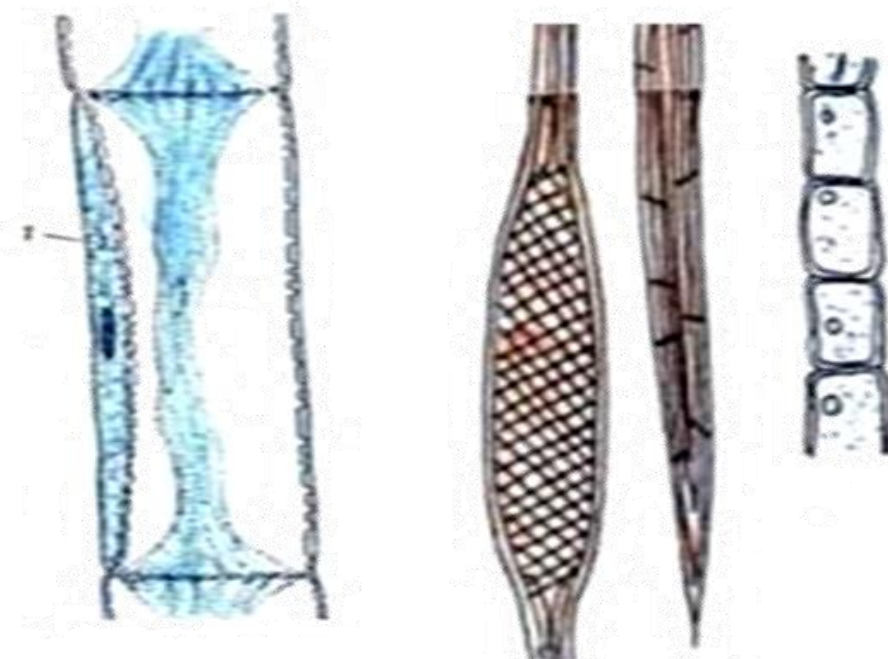


Рис 1.5. Низхідний (флоємний) транспорт

Тема 1.6. Нижній кінцевий двигун води в рослині (НКД)

Всім наземним рослинам властиво створювати висхідний (безперервний) потік води. Водний обмін у рослин складається з трьох етапів: поглинання води кореневою системою; пересування води по судинах; випаровування (транспірація) води (рис. 1.6.).

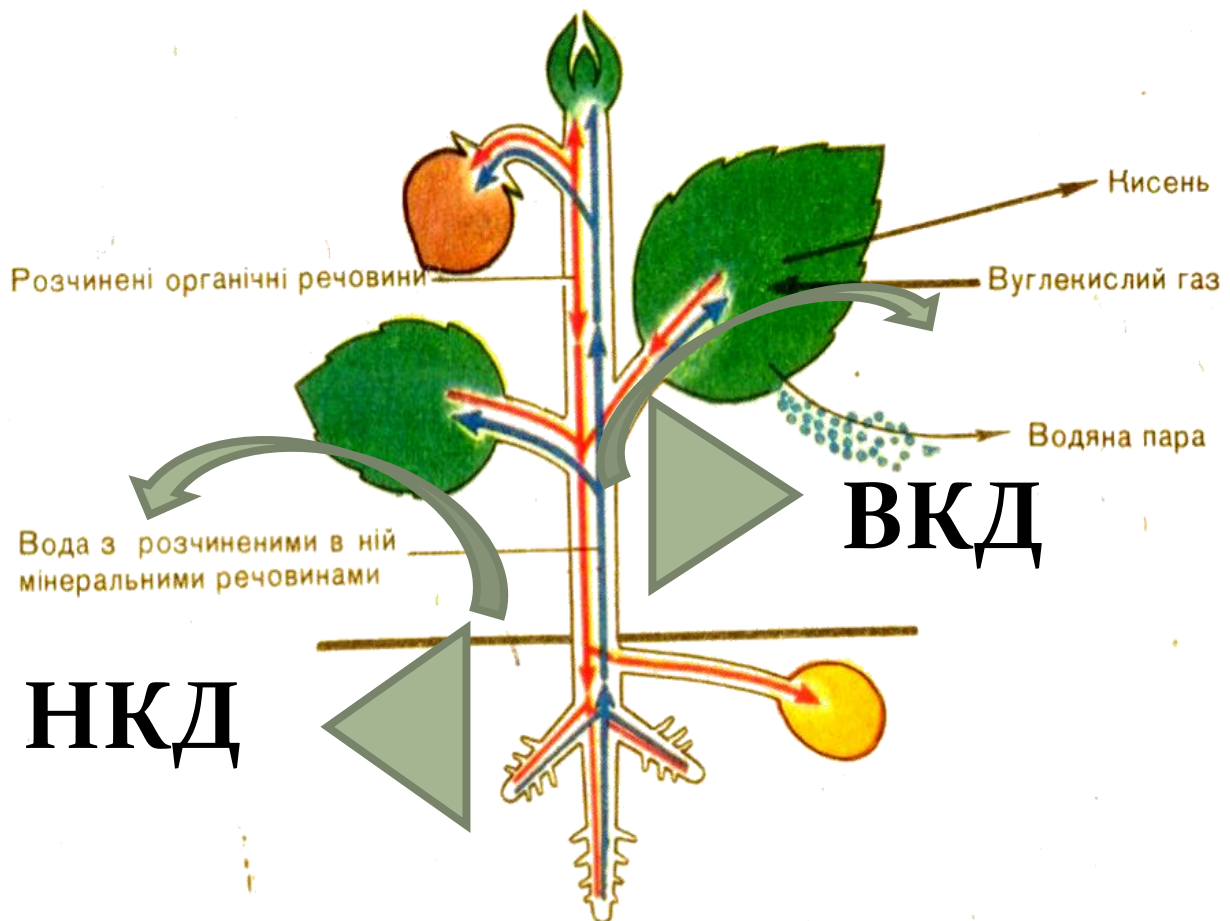


Рис. 1.6. Нижній та верхній кінцеві двигуни

<https://school.home-task.com/>

Існує два кінцеві двигуни води у рослинному організмі, які забезпечують її транспорт: верхній кінцевий і нижній кінцевий двигуни.

Нижній кінцевий двигун (НКД) забезпечується *кореневим тиском*.

Кореневий тиск – це рушійна сила нижнього кінцевого двигуна, що забезпечує потік води (односторонній) разом з розчиненими мінеральними речовинами в надземну частину рослини. Корінь рослини є спеціалізованим для поглинання і транспортування води органом, будова якого цілком відповідає забезпеченню його головної функції (рис. 1.7.).

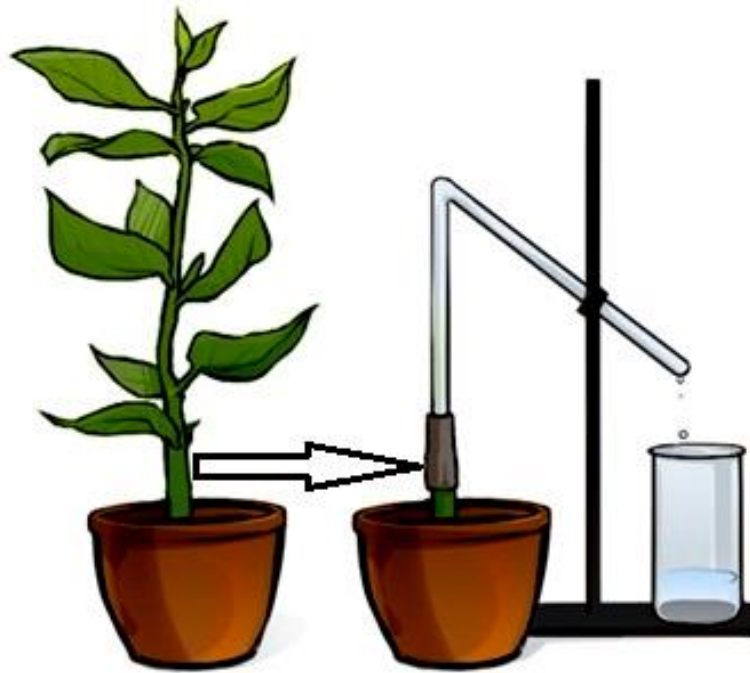


Рис. 1.7. Нижній кінцевий двигун води в рослині (НКД)

<https://vseosvita.ua/>

Морфолого – анатомічна будова кореня пов’язана для потреби поглинати воду разом з мінеральними речовинами з ґрунту. Зона росту кореня, не перевищує 1 см в довжину і складовими зонами є зона поділу (1-2 мм клітини меристеми) із кореневим чохлаком та зони розтягування. В зоні поділу меристематичні клітини постійно діляться (кожна клітина – 6-7 раз) і починається їх диференціація. Коли зупиняється поділ, клітини кореня переходять в зону розтягування і там закінчується диференціація флоєми і формуються елементи ксилеми. В зоні кореневих волосків завершується диференціація тканин кореня (ризодерми, первинної кори, ендодерми і тканини центрального циліндра).

На поздовжньому розрізі кореня розрізняють наступні зони, а саме:

1. Кореневий чохлак – це своєрідний «ковпачок», що вкриває шар меристематичних клітин апексу кореня. Складається з комплексу живих паренхімних клітин з тонкими оболонками, що легко ослизнюються. Кореневий чохлак захищає зону росту (меристематичні клітини) від механічних пошкоджень, полегшує просування кореня в ґрунті та сприймає силу земного тяжіння визначаючи напрямок росту кореня.
2. Зона поділу – представлена кількома шарами дрібних меристематичних клітин, що інтенсивно діляться і назовні утворюють нові шари кореневого чохлака, які поступово злущуються в процесі просування кореня в ґрунті, а досередини дають початок усім тканинам кореня.

3. Зона розтягування – у цій зоні клітини ростуть, розтягуються завдяки чому корінь просувається вглиб ґрунту. (Зону поділу і зону розтягування об'єднують в зону росту кореня).
4. Зона диференціації – в цій зоні, клітини, що набули характерного їм розміру у зоні розтягування, починають змінюватись (диференціюватися) й перетворюватись у спеціалізовані клітини тих чи інших тканин.
5. Всисна зона (зона корневих волосків) – у цій зоні утворюються кореневі волоски, що активно вбирають воду.
6. Провідна зона, або зона бічних коренів – розміщена вище всисної зони. У цій зоні корінь не здатний поглинати ґрунтовий розчин, бо кореневі волоски на ній відсутні, але вона забезпечує висхідний і низхідний транспорт. У цій зоні відбувається потовщення кореня та його галуження (утворення бічних коренів) (рис. 1.8.).

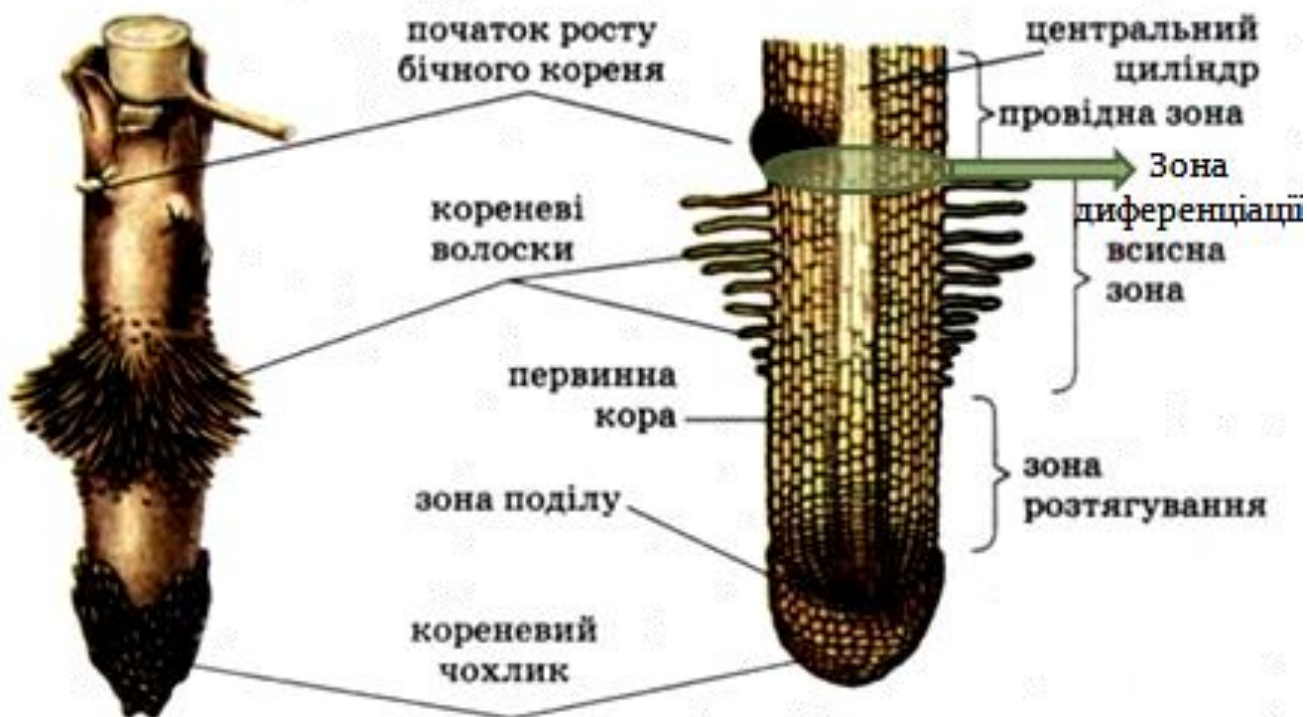


Рис. 1.8. Зони кореня

У зоні корневих волосків (поперечний зріз кореня) виділяють такі шари тканин:

1. Ризодерма (епіблема) – первинна покривна тканина, клітини якої утворюють кореневі волоски. Це тканина, що складається з одного шару клітин, яка покриває корінь зовні. Функція ризодерми полягає у поглинанні води і мінеральних речовин. Під час росту і розвитку рослин ризодерма змінюється на екзодерму і перидерму (коркова тканина). Деякі рослини

зберігають ризодерму змінюючи структуру. Корінь трав'янистих рослин складається з декількох шарів живих клітин паренхіми, які розташовані між ризодермою і ендодермою.

2. Первинна кора – багат шарова тканина, побудована з таких тканин:

- Екзодерма – шар великих багатокутних живих клітин, щільно з'єднаних одна з одною радіальними стінками, які виконують функції захисту, пропускання води і солей (згодом корковіють, виконують лише захисну функцію).
- Мезодерма – багат шарова паренхіма з живих клітин.
- Ендодерма – один шар щільно зімкнених клітин, стінки яких несуть кільцеподібні потовщення (містять суберин і лігнін) і є непроникними для води (це пояски Каспарі); між цими клітинами розташовані живі тонкостінні пропускні клітини. Крізь пропускні клітини проходить вода з розчиненими речовинами (з первинної кори до ксилеми центрального циліндра). Ендодерма знаходиться на межі із центральним циліндром (рис. 1.9.).

3. Центральний циліндр (стела) – побудований з таких тканин:

- Перицикл, або перикамбій – складається із шару живих тонкостінних паренхімних клітин, які періодично діляться, дають початок бічним кореням та іншим тканинам (вторинна твірна тканина). Ці клітини регулюють транспорт речовин у ксилему із флоєми, а також виконують функцію твірної тканини. Вони продукують бічні корені, а у дводольних – формують камбій і променеву паренхіму.
- Паренхіма – тканина, в якій радіально розміщений судинний пучок, що складається із ксилеми і флоєми; флоєма і ксилема розміщуються на різних радіусах (ксилема ближче до центру).



Рис. 1.9. Радіальний зріз кореня

Ксилема представлена метаксилемою (в зоні корневих волосків). Функцію транспорту у голонасінних рослин виконують трахеїди (довгі – 0,1-12 см, загострені на кінцях клітини, що з'єднуються облямованими порами). В структурі покритонасінних рослин переважають судини ксилеми – це порожнисті трубки із клітинних стінок (0,1-2 м), які контактують між собою і клітинами паренхіми через облямовані пори. Плазмодесм між ними немає. Вода разом з розчиненими речовинами з паренхімних клітин дифундують у порожнину судини через первинну клітинну оболонку.

Для виконання своїх функцій корінь орієнтується в просторі, реагує на градієнти необхідних факторів для життєдіяльності і контактує з ґрунтом.

При проростанні корінь орієнтується в гравітаційному полі та сприймається статолітами. Дуже чутливий до механічного тиску дистальний кінець кореня, який росте і проникає лише в пухкі ділянки ґрунту. На цілеспрямовані вигини кореня і різну швидкість його росту впливає різний вміст та різна локалізація абсцизової кислоти (АБК). На просування кінчика кореня і його рух впливає кореневий чохлак, який ослизнюється і злушується. В посушливий період корінь реагує на градієнт вологості, а вже потім на гравітаційне поле.

Радіальний транспорт води. З ґрунтового розчину вода потрапляє через кореневі волоски завдяки силам осмосу. Кореневі волоски (клітини, які є осмотичними системами і втягують воду завдяки градієнту концентрації, що виникає між їхнім вакуолярним соком і водним розчином у ґрунті.) Кореневі волоски виконують функцію збільшення всисної поверхні.

Наприклад: рослина жита (віком чотирьох місяців) налічує 14 млн. корінців (площа поверхні дорівнює 230м^2), 14 млрд. корневих волосків (площа поверхні дорівнює 400м^2). Поверхня всисної кореневої системи більша площі надземної частини де відбувається транспірація (в десятки разів). Корені рослин поглинають воду всією поверхнею. Вище корневих волосків швидкість поглинання зменшується через окорковіння клітин.

З корневих волосків, які розташовуються в ризодермі, вода потрапляє у первинну кору, по якій рухається апопластом досягаючи ендодерми. Клітини ендодерми на своїх оболонках містять кільцеподібні потовщення – пояски Каспарі, які утворюють непроникну перепону на шляху апопластного руху води (містять лігнін і суберин). Проте, пропускній зоні, в місцях- де закладаються бічні корені, ендодерма переривається і тут присутні пропускні клітини (які не несуть поясків Каспарі), тому здатні пропускати воду. Через пропускні клітини вода й долає ендодерму, проходячи крізь неї по симпласту. Апопластний транспорт води чинить менше протидії її рухові порівняно з симпластним і проходить значно швидше. Через ендодерму, вода потрапляє до перициклу, в якому знову рухається по апопласту досягаючи судин ксилеми осевого циліндра (рис. 1.10.).

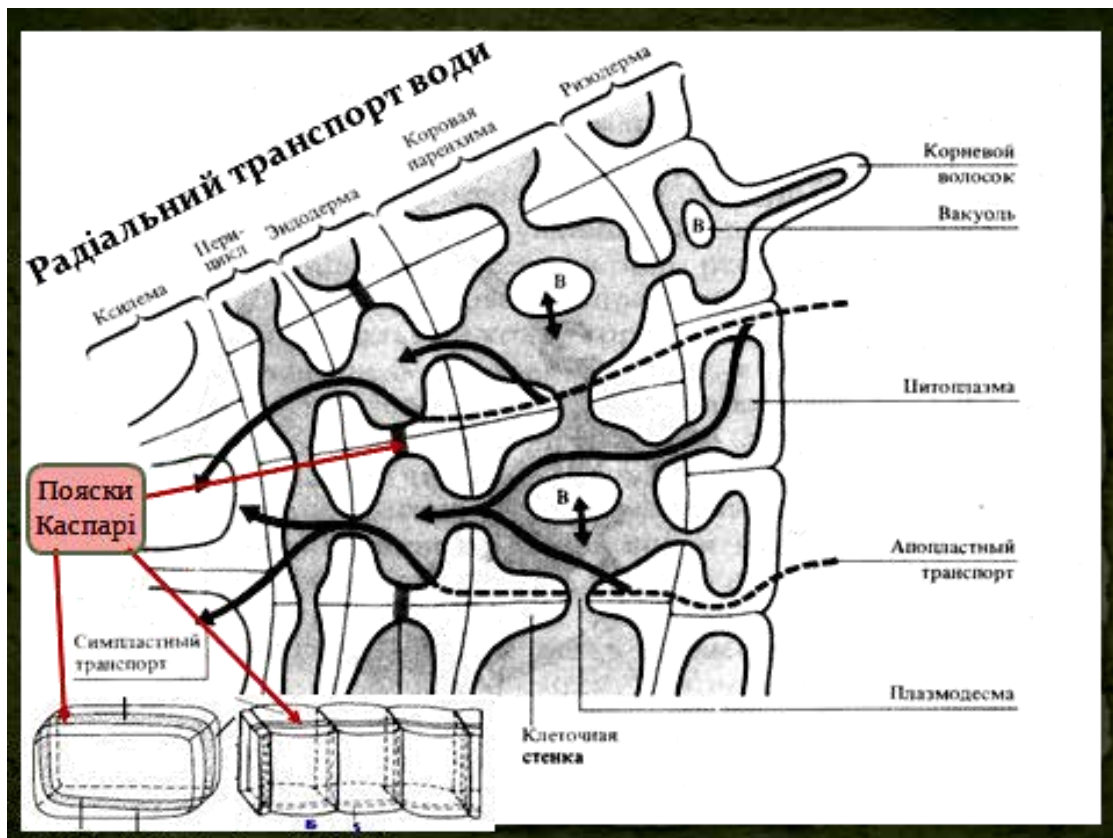


Рис. 1.10. Радіальний транспорт води

Кореневий тиск (механізми). Надходження води в судини ксилеми відбувається завдяки осмотичним явищам. До осмотично-активних речовин судин відносять мінеральні речовини й метаболіти. Вони виділяються активними іонними помпами плазмалеми клітин паренхіми, які оточують судини. Сисна сила стає більшою, ніж в оточуючих клітинах і сприяє транспорту води в ксилему. У клітинних стінках відсутня протидія, бо вони лігніфіковані і не еластичні. Після роботи іонних насосів та осмотичного (пасивного) надходження води в судини ксилеми, у корені утворюється гідростатичний тиск (кореневий тиск). Кореневий тиск забезпечує підняття ксилемного розчину по судинах із кореня в надземні частини і цей механізм називають нижнім кінцевим двигуном.

Плач рослин та гутація.

Внаслідок дії осмотичних сил розвивається кореневий тиск, який забезпечує роботу нижнього кінцевого двигуна. Прикладом дії нижнього кінцевого двигуна є плач рослин і гутація.

У ранній весняний період відбувається інтенсивне виділення рідини знизу до верху через пошкодження стовбурів чи гілок. Кореневий тиск в основі стовбура дерев може досягати 10 атм. Якщо видалити стовбур дерева, то можемо спостерігати тривале виділення пасоки (ксилемного соку).

Плач рослин – це виділення рослиною пасоки (води й розчинених у ній речовин) із перерізаного або ушкодженого стебла (рис. 1.11.).



Рис. 1.11. Плач рослин

Прикладом роботи нижнього кінцевого двигуна є *гутація*. При високій вологості повітря на кінцях листків виділяються краплини вологи. Це явище характерне для тропічних рослин.

Гутація – процес виділення краплин води крізь *гідатоми* – особливі порові утворення на краях листкових пластинок. Гутація відбувається в основному вночі і вранці, коли кореневий тиск підвищується і при підвищеній вологості повітря та помірно теплій погоді при невисокій транспірації (рис. 1.12.).

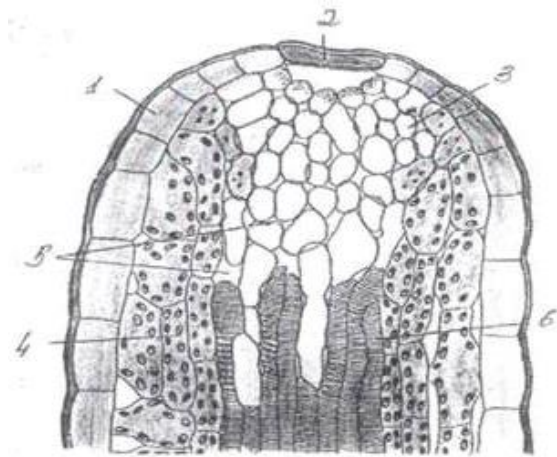


Рис. 1.12. Гутація

Тема 1.7. Верхній кінцевий двигун води в рослині (ВКД)

Верхній кінцевий двигун води в рослині забезпечується *транспірацією* (рис. 1.13.).



Рис. 1.13. Верхній кінцевий двигун води в рослині (ВКД)

Підняття води (по судинах ксилеми) забезпечується діяльністю НКД, транспіраційного потоку (ВКД), а також капілярними силами – *адгезії* та *когезії*.

Зчеплення молекул води зі стінками капілярів (прилипання молекул води до судин) називається *адгезією* (рис. 1.14.).

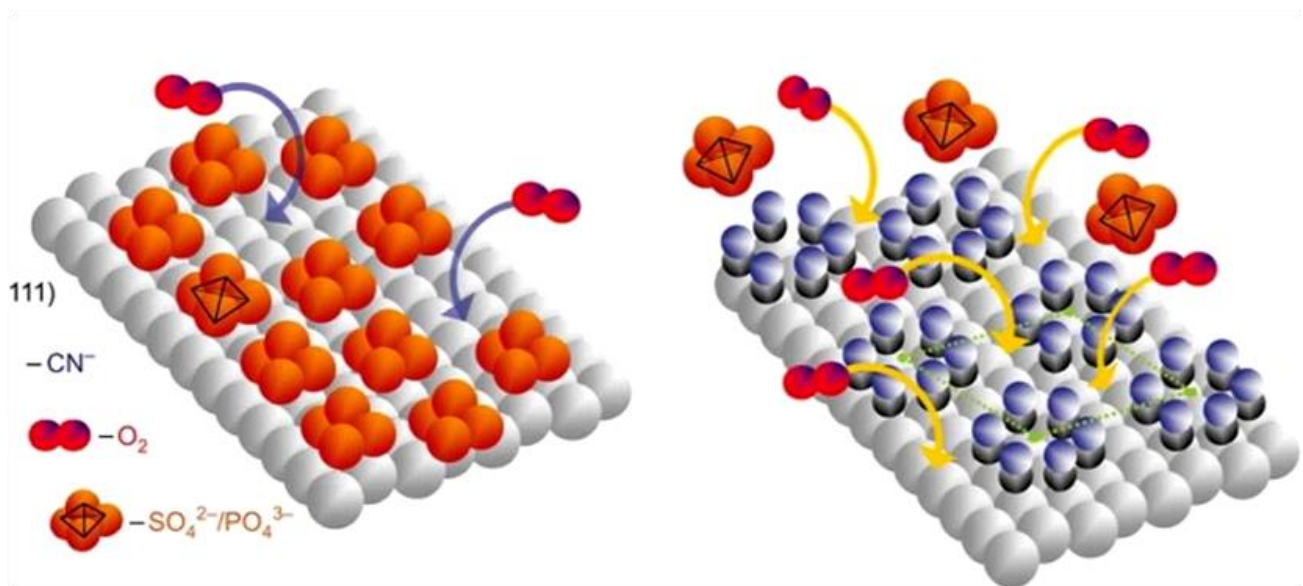


Рис. 1.14. Адгезія (зчеплення молекул води зі стінками капілярів)

Шлях води, що потрапляє з кореня до осевого циліндру радіально, потім піднімається по судинах ксилеми вертикально, забезпечується НКД (кореновому тиску) і ВКД (транспірації).

Зчеплення молекул води між собою називається *когезією* (рис. 1.15.).

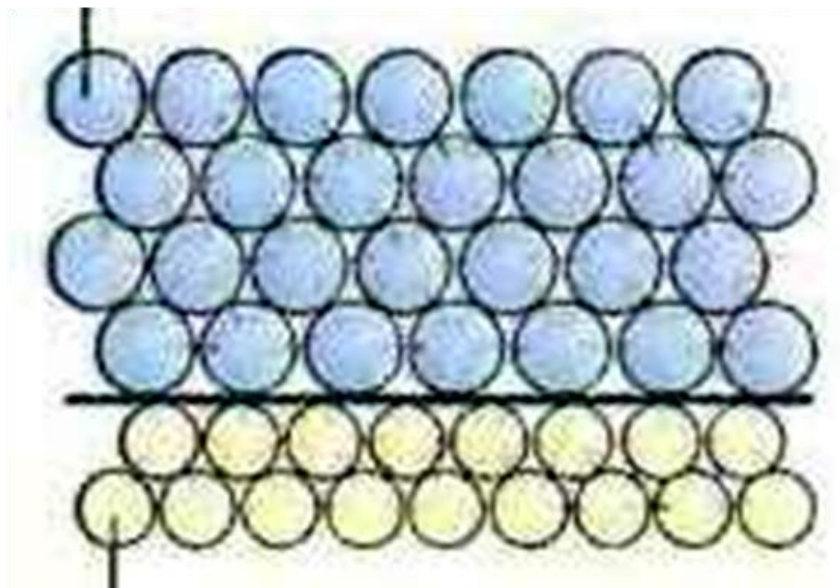


Рис. 1.15. Когезія (зчеплення молекул води між собою)

Транспірація – це процес випаровування води з поверхні рослинного організму, рушійний механізм верхнього кінцевого двигуна.

Органом транспірації є листок і ця функція забезпечується особливостями його будови.

Зовні листок вкритий одношаровим епідермісом, який на своїй поверхні розвиває кутикулу – водонепроникний шар з кутинізованих оболонок клітин, що часто вкрита воском, волосками чи лусочками (рис. 1.16.).

Надмірному випаровуванню води з листової поверхні перешкоджає кутикулярний шар клітин. Вода потрапляє у листки крізь черешок по жилках. По мірі розгалуження жилок кількість провідних елементів у них зменшується. Дрібні жилки складаються з окремих трахеїд, сітка яких дуже густа. Трахеїди закінчуються між клітинами мезофілу.

Клітини мезофілу діляться на стовпчастий (палісадний) і губчастий. Стовпчастий орієнтований на забезпечення функції фотосинтезу, а губчастий – газообміну і транспірації.

Губчастий мезофіл містить густу мережу міжклітинників. Площа внутрішньої поверхні листка перевищує площу його зовнішньої поверхні завдяки особливості будови цієї тканини.

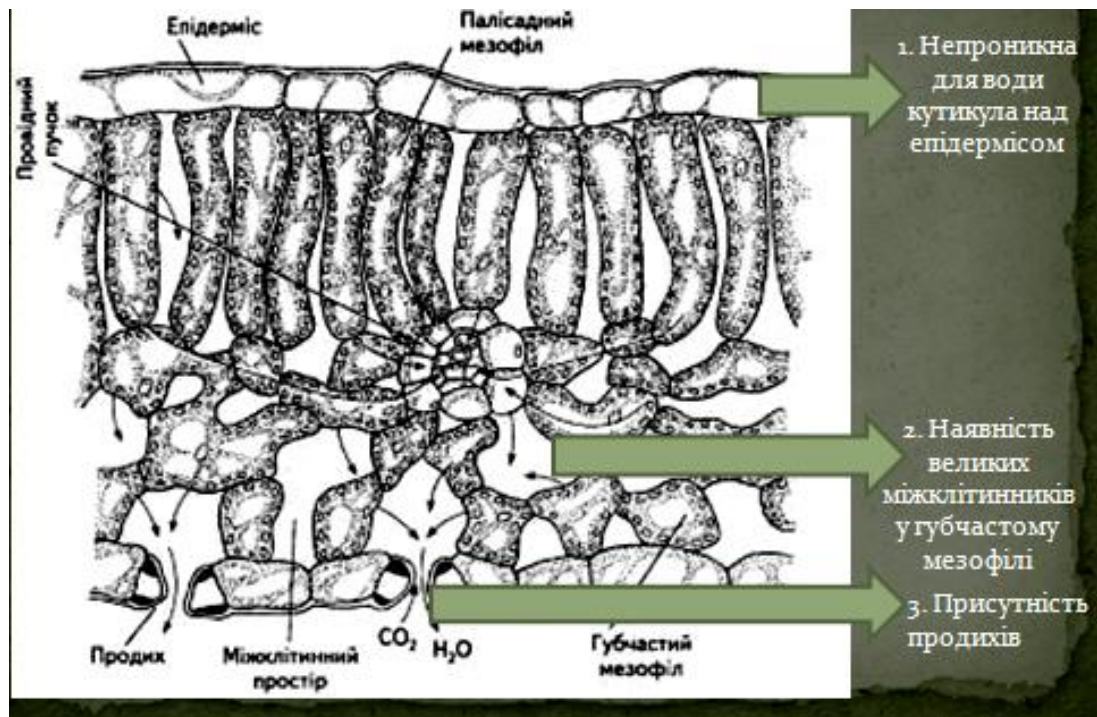


Рис. 1.16. Будова листка

Етапи транспірації у листку:

1. Рух води по судинах ксилеми до клітинних оболонок губчастого мезофілу.
2. Випаровування води в міжклітинні простори.
3. Дифузія води з міжклітинників в атмосферу через продихи, кутикулу, сочевички.

Вода рухається апопластним шляхом до місць випаровування, який чинить значно меншу протидію, бніж симпласт ний шлях. Вода, яка випаровується з клітинних оболонок знижує водний потенціал розчину, який міститься в апопласті клітин мезофілу. Це спричинює осмотичне надходження води з сусідніх клітин і судин ксилеми.

Транспірація буває:

1. Продихова (здійснюється через продихи). Продихи – порові утворення, які утворюються на епідермісі листків. Вони складаються з двох замикаючих клітин (бобоподібної форми), між ними утворена продихова щілина. Стінки продихових клітин неоднаково потовщені.

Ті, що оточують продихову щілину сильно потовщені, мало еластичні, а ті, що знаходяться протилежно, вони тоненьки і еластичні. Така особливість будови регулює відкритість продихів (величину продихової щілини) і інтенсивність транспірації. Від стану замикаючих клітин залежить механізм закривання і відкривання продихів (рис. 1.17.).

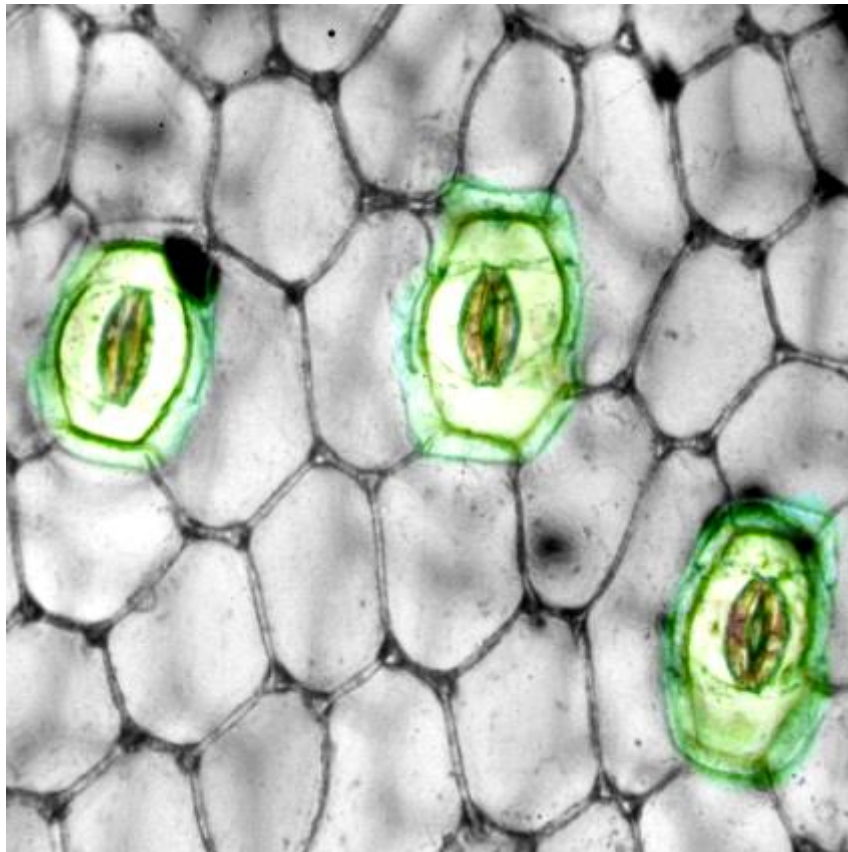


Рис. 1.17. Продихова транспірація

<https://jak.koshachek.com/>

2. Кутикулярна (здійснюється через поверхню кутикули, що вкриває епідерміс). Транспірація через кутикулу, як правило нижча, на відміну продихової. Але коли закриті продихи вона має значення у водообміні рослин. Інтенсивність такої транспірації залежить від товщини кутикули. Наприклад у молодих листочків, які мають тонку кутикулу – 50-70% всієї транспірації, а у зрілих листків – 7% (рис. 1.18.).

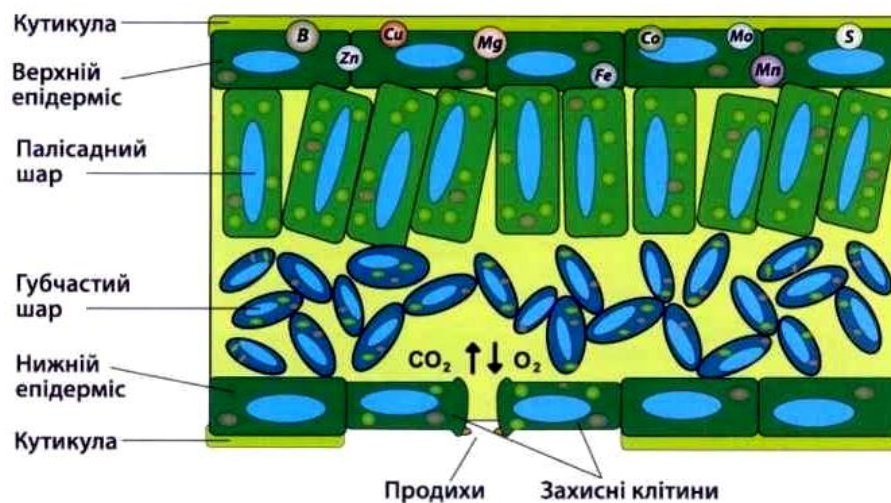


Рис. 1.18. Кутикулярна транспірація

<https://agrostore.biz.ua/>

3. Лентикулярна (здійснюється через сочевички, які складаються з нещільно розташованих клітин перидерми на багаторічних пагонах і коренях). Їх можна спостерігати на поверхні листків у вигляді горбиків різної форми, які проривають верхній шар кірки. Через них здійснюється газообмін багаторічних пагонів і коренів (рис. 1.19.).



Рис. 1.19. Лентикулярна транспірація
https://beaplanet.ru/steblo_roslini/

Транспірація, її величина має такі показники:

1. Інтенсивність транспірації (ІТ). Це кількість води, яку випаровує рослина (в г) за одиницю часу (г) одиницею поверхні листка (в дм²). Ця величина коливається в межах 0,15 – 1,47 г на дм² на 1 годину.

2. Транспіраційний коефіцієнт (ТК). Це кількість води (у грамах), що витрачається на утворення 1 г сухої речовини (виражається в г або мл). Залежить від кліматичних, ґрунтових умов, виду і сорту рослин.

3. Продуктивність транспірації (ПТ). Це кількість сухої речовини (в г), нагромадженою рослиною за період, коли вона випаровує 1 кг (л) води. Виражається в г/л.

4. Відносна транспірація (ВТ). Це відношення води, що випаровується з рослин до води, що випаровується з вільної водної поверхні тієї ж площі за той же проміжок часу.

5. Коефіцієнт водоспоживання (КВ). Це витрата продуктивної вологи в м³ на 1 ц продукції.

Тема 1.8. Екологічні групи рослин

Для існування рослинних організмів необхідною умовою є наявність води. Рослини виробили певні пристосування до режимів зволоження. Особливо це позначилося на внутрішній і зовнішній будові, особливостях функціонування. Існує дві принципово відмінні стратегії пристосування організмів до перенесення несприятливих умов нестачі вологи.

Пойкілогідричні організми, які зневоднюються і впадають в анабіоз за відсутності зовнішньої вологи (мохоподібні, лишайники).

Гомойогідричні організми, які сформували механізми регулювання свого водного режиму. І вразі обезводнення гинуть (більшість вищих рослин).

Відносно води рослини поділяють на різні екологічні групи:

Гідатофіти. Водні рослини, які повністю занурені в воду. Листки таких рослин не мають кутикули, корені відсутні взагалі або дуже редуковані, наявна паренхіма з численними міжклітинниками, яка називається аеренхіма.

Аерогідатофіти (гідатофіти). Рослини листки яких плавають на поверхні води.

Гідрофіти. Наземно-водні рослини, які частково занурені у воду і зростають по берегах водойм та на болотах.

Гігрофіти. Наземні рослини, які ростуть в умовах підвищеної вологості та на вологих ґрунтах.

Мезофіти. Рослини помірно зволжених місцезростань.

Ксерофіти. Рослини сухих і добре освітлених місцезростань. Їх ділять на:

- Сукуленти. Рослини мають соковиті стебла та листки;
- Склерофіти. Рослини, які не мають водозапасаючої тканини. Пагони та листки пристосовані до втримання вологи шляхом зменшення інтенсивності транспірації.

Існує група рослин, які уникають засушливих умов і вегетація відбувається у них лише ранньою весною або восени.

До них відносяться:

Ефемери. Рослини – однорічники, вегетація закінчується за короткий період. У них швидко дозрівають плоди і відмирають (вероніка весняна).

Ефемероїди. Рослини – багаторічники. Вегетація весною і восени. Ці рослини більшу частину року перебувають у стані спокою (підземні бульби, цибулини, кореневища).

Лабораторна робота №1

Оцінка стану продихів методом інфільтрації (за Молішем)

Продих — це вузький міжклітинний отвір (щілина), обмежений двома замикаючими клітинами бобоподібної форми, крізь які відбувається газообмін між внутрішніми тканинами і зовнішнім середовищем. Варто зазначити

відсутність плазмодесм у замикаючих клітинах, тобто їхню відносну ізоляцію від інших клітин епідермісу.

У багатьох рослин (75% видів) продихи розташовані на нижній стороні листка. Загальна площа продихів – від 1 до 2% всієї листкової поверхні. Залежно від виду кількість продихових отворів коливається від 10 до 600 на 1 мм² листка. Розташування продихів залежить від жилкування листків (у хвойних – паралельними рядами, у інших рослин – рівномірно).

Виявлено, що вдень на світлі в замикаючих клітинах накопичуються йони калію та супутні їм аніони. Вони є осмотично активними (забезпечують надходження води), тому зовнішні оболонки замикаючих клітин розтягуються і продих відкривається.

В темряві йони калію транспортуються із замикаючих клітин до оточуючих клітин епідермісу. Супроводжується відтік води і продих закривається. Цей процес пояснюють активацією специфічних кальцієвих і калієвих йонних каналів. А також впливає фітогормон абсцизова кислота (АБК) в замикаючих клітинах.

На стан продихів впливає вміст води в клітинах мезофілу листка, а також температура.

У даній роботі стан продихів оцінюють за методом Г. Моліша (метод інфільтрації). Міжклітинники листа зазвичай заповнені повітрям, завдяки чому при розгляді на світлі лист здається матовим. Якщо станеться інфільтрація, тобто заповнення міжклітинників будь-якої рідиною, то відповідні ділянки аркуша стають прозорими.

Метод базується на ступені проникності різних хімічних речовин, які просочуються крізь продихи. По їх проникності можна визначити ступінь відкритості продихів. Визначення стану продихів методом інфільтрації засноване на здатності рідин, що змочують клітинні стінки, проникати через відкриті продихові щілини в найближчі міжклітинники, витісняючи їх повітря.

У результаті відповідні ділянки стають прозорими. У міжклітинники відносно легко проникає ксилол, важче – бензол та ще важче – спирт. Це пов'язано з тим, що ці рідини мають різну в'язкість. Ступінь розкриття продихів може служити фізіологічним показником визначення забезпеченості рослин водою та встановлення термінів поливу.

Мета роботи: визначити стан продихів рослин методом інфільтрації.

Предмети і матеріали. Піпетки, ножиці, листки рослин різних видів, ксилол, бензол, спирт 70%.

Хід роботи:

1. На нижню сторону листя рослин, що ростуть за різної водозабезпеченості, наносять послідовно спирт, бензол і ксилол в окремі місця.

2. Листя витримують у горизонтальному положенні до повного зникнення крапель, які можуть випаруватися, або проникнути всередину листа. Потім розглянути його на світлі.

3. Поява на листі прозорих плям вказує на проникнення цієї рідини в міжклітинники.

4. При слабо відкритих продихах — ксилол проникає крізь продихи, заповнюючи міжклітинники мезофілу листка і на листку з'являється прозора масна пляма (якщо подивитись на листок проти світла). Щодо бензолу і спирту, то ці краплини висихають.

Якщо продихи середньо відкриті, то плями з'являються на дослідних листках не лише від ксилолу, але й від бензолу. Спирт випаровується.

5. Результати записати в таблицю 1.1.

Таблиця 1.1.

Назва, вид рослини	Умови росту, ярусність	Інфільтрація			Висновки про стан продихів
		ксилол	бензол	спирт	

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Які чинники впливають на відкриття та закриття продихів?
2. Яка будова продихового апарата?
3. Які види транспірації ви знаєте? Поясніть різницю механізму дії продихової та кутикулярної транспірації.
4. Яка роль продихів у рослинному організмі?
5. Восени, після опадання з дерев листя, як відбувається транспірація (випаровування води)?

Лабораторна робота №2

Визначення здатності перерозподілу калію у зв'язку з рухом продихових клітин

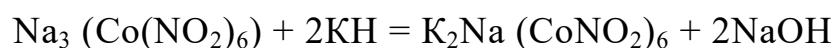
Чинник, що регулює рух продихів, є зміна насиченості замикаючих клітин водою. Замикаючі клітини продиху відрізняються від інших клітин епідерми листка тим, що мають хлоропласти.

Важливою особливістю замикаючих клітин є неоднакова товщина їх стінок. Це пов'язано з рухом і регулюванням розміру продихової щілини. Зовнішні стінки замикаючих клітин тонкі, а ті, що обернені до продихової щілини потовщені. Зміни об'єму клітин супроводжується і змінами форми. Зовнішні стінки замикаючих клітин розтягуються при збільшенні їх об'єму значно більше, ніж внутрішні стінки. При повному насиченні клітин водою внутрішня частина клітинної оболонки випинається в середину клітини, що

призводить до збільшення розмірів і розкривання продихів.

При втраті води замикаючі клітини випрямляються і продихова щілина закривається. Продихова регуляція пов'язана з роботою калієвих іонних насосів, що забезпечують перерозподіл калію між замикаючими клітинами продихів і сусідніх епідермальних клітин.

Доведено, що вдень на світлі в замикаючих клітинах завдяки АТФ концентруються іони калію та супутні їм аніони, що осмотично активні (забезпечують надходження води). Зовнішні стінки розтягуються і продихи відкриваються. Коли темрява іони калію виходять із замикаючих клітин до оточуючих клітин епідерми. Це супроводжується відтоком води і продихи закриваються. Цю різницю можна спостерігати за допомогою методу на основі взаємодії кобальтнітрату натрію з іонами калію в рослинній тканині:



Спостерігаємо утворення жовтого кристалічного осаду солі $\text{K}_2\text{Na} (\text{CoNO}_2)_6$. Для кращого виявлення потрібно обробити препарат сульфідом амонію. В місцях насичення калію отримуємо коричневий осад сульфід кобальту.

Мета роботи: Прослідкувати за перерозподілом іонів калію в продихових клітинах в зв'язку з рухом продихів.

Предмети і матеріали. Проростки (14 діб) бобів, квасолі, гороху, вівса або рослини традесканції, інкубаційне середовище, бідистильована вода, світлові мікроскопи, предметні та покривні скельця, насичений розчин сульфід амонію, 50%-ний розчин гліцерину, кристалізатори з льодом (снігом), леза, скляні палички, ступки.

Хід роботи:

1. Для роботи потрібні рослини з закритими та відкритими продихами (першу частину рослин поливають і тримають на світлі 1-2 год, а другу в темряві, щоб продихи закрились).

2. Рослинні об'єкти з відкритими продихами можна отримати й іншим шляхом. За 1 год до початку досліду нарізати смужки з листка досліджуваного об'єкта. Перенести їх у ступки, заповнені водою й освітлені настільною лампою (розташовані на різній відстані від джерела світла).

3. З нижнього боку листової пластинки дослідних рослин під прямим кутом до центральної жилки зробити поверхневі надрізи на відстані 2-3 мм. Відділити смужки епідерми.

4. Помістити епідерму на 2-3 хв в ступки з охолодженою бідистильованою водою з метою видалення позаклітинного калію.

5. Перенести смужки епідерми на 5-7 хв в посудину з охолодженим інкубаційним середовищем і промити у ступці охолодженим бідистильютом 1-3 хв.

6. Приготувати інкубаційне середовище (20 г нітрату кобальту та 35 г нітриту натрію розчинити в 75 мл підкисленої бідистильованої води (10 мл льодяної оцтової кислоти довести до 75 мл бідистильютом). Профільтрувати

розчин, довести його до об'єму 100 мл бідистилятом. Приготовлене інкубаційне середовище має термін зберігання близько 30 діб.

7. Враховуючи те, що кристали натрієво-калієвої солі кобальта і азотистої кислоти при 20-25°C частково розчиняються, то посуд з інкубаційним середовищем та ступки з водою слід помістити в лід (сніг)

8. Отримані препарати епідерми рослин вивчити під світловим мікроскопом (у суміші 50% гліцерину і насиченого розчину сульфиду амонію у співвідношенні 1:1).

9. Перерозподіл іонів калію в продихових клітинах замалювати у рослин з відкритими та закритими продихами.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Якими методами можна відкрити та закрити продихи в лабораторних умовах?
2. Який механізм дії калієвих іонних насосів?
3. Замикаючі клітини при відкритих чи закритих продихах містять більше іонів калію?
4. На чому ґрунтується кобальтнітритний метод?
5. Яка будова продихів?

Лабораторна робота №3

Вивчення тургору рослинної клітини. Поглинання води та її вихід із клітин коренеплоду моркви

Надходження води в рослинну клітину (яка поміщена в чисту воду), обмежена клітинною стінкою, розтягування якої не нескінченно.

У клітині підвищується гідростатичний (тургорний) тиск. Це збільшує вільну енергію молекул води до рівня вільної енергії молекул чистої води, та водний потенціал клітини ($\Psi_{кл}$) стає рівним нулю. Це повністю насичені водою клітини.

Якщо клітини помістити не у воду, а в розчин (кухонна сіль, сахароза та ін), то вода виходить з клітин і вони втрачають тургор.

Порівняння клітин тургоресцентних і тургор, що втратили зручно провести у досвіді з коренеплодом моркви.

Мета роботи: виявити явище тургору при надходженні і виходу води в клітинах коренеплоду моркви.

Предмети і матеріали. 2 склянки, насичений розчин NaCl, вода, ніж, коренеплід моркви.

Хід роботи:

1. З середини коренеплоду моркви (починаючи з кінчика кореня) вирізають повздовжню смугу тканини шириною 8-12 мм та її видаляють. Дві частини кореня залишаються з'єднаними протягом приблизно 1/5 усієї його довжини.

2. Обидві частини коренеплоду поміщають у дві склянки, що стоять поряд, в одному – насичений водний розчин хлориду натрію, в іншому – вода.

3. Через 1,5 – 2 год корінь витягають із склянок, порівнюють розмір і тургор тканин у його половинах і роблять висновок про те, якою зі склянок стався вихід води з тканин кореня, що привів до втрати ними тургора.

4. Сформулювати висновок про стан обох частин коренеплоду моркви.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Поясніть явище тургору. Тургорний тиск.

2. Підсисна сила та її зв'язок з тургорним тиском.

3. Поясніть, чому у рослини, корені якої занурені в чисту воду, в разі додавання до неї солей можливе тимчасове в'янення, однак через короткий проміжок часу її тургор відновлюється.

4. Які особливості має коренева система рослини в зв'язку з її функцією поглинання води із ґрунтового розчину?

Лабораторна робота №4 Спостереження за рухом прорихів

У замикаючих клітин прорихів стінки, прилеглі до прорихової щілини, потовщені, а зовнішні стінки тонші. Неоднакова товщина стінок замикаючих клітин призводить до того, що при зміні тургора замикаючі клітини здатні змінювати форму, відкриваючи або закриваючи прорихову щілину.

Отже, ступінь насичення клітин водою дуже впливає на рух прорихів. Розрізняють три типи прорихових рухів: гідропасивні, гідроактивні, фотоактивні.

Гідропасивні рухи закривання пов'язані з насиченням водою клітин, що оточують прорихи.

Гідроактивне закривання прорихів пов'язане зі збільшенням в самих клітинах прорихів водного дефіциту та з підвищенням у них вмісту абсцизової кислоти, яка пригнічує роботу H^+ - насосів на мембранах замикаючих клітин. Це

призводить до зниження тургору замикаючих клітин і, отже, до закривання продихів.

Фотоактивне відкривання продихів полягає у збільшенні ширини продихової щілини при підвищенні інтенсивності освітлення (головна роль при цьому відводиться синьому світлу). Механізм фотоактивних рухів поки що не зовсім зрозумілий.

Мета роботи: Визначити ступінь насичення клітин водою, що впливає на рух продихів.

Предмети і матеріали. Свіжі листки рослин, розчини гліцерину (5%-і 20%-ний), 1 М розчин сахарози, пінцет, мікроскоп, предметне та покривне скло, смужки фільтрувального паперу.

Хід роботи:

1. Приготуйте кілька зрізів нижньої епідерми листка. Помістіть зрізи на предметне скло у краплю води та розгляньте за великого збільшення мікроскопа.

2. Замалювати один продих відзначивши потовщення клітинних стінок замикаючих клітин та вказати основні частини продихового апарату.

3. Нанести поруч із покривним склом 2–3 краплі 1 М розчину сахарози, приклавши з іншого боку шматочок фільтрувального паперу, і відразу приступити до спостереження за зміною ширини продихової щілини.

4. Знову замінити розчин сахарози водою. Зробити малюнки відкритого та закритого продиху, вказати час закривання та відкривання.

5. Приготуйте кілька зрізів нижньої епідерми аркуша. Помістіть зрізи на предметне скло у краплю води та розгляньте за великого збільшення мікроскопа. Зробити малюнок.

6. Нанести поруч із покривним склом 2–3 краплі 5% гліцерину, приклавши з іншого боку шматочок фільтрувального паперу, і відразу приступити до спостереження за зміною ширини продихової щілини, відзначають стан клітин та замальовують їх. Гліцерин проникає у вакуолі замикаючих клітин, знижує їх водний потенціал і, отже, підвищує їхню здатність засмоктувати воду.

7. Потім замінюють гліцерин на воду, відтягуючи його з-під скла фільтрувальним папером. При цьому спостерігається відкривання продихових щілин. Засікти час і замалювати препарат. Після цього воду замінюють 20%-им розчином гліцерину. Засікти час. Спостерігати закривання продихів. Зробити малюнок.

8. Замалювати продихи у воді та в розчинах 1 М розчину сахарози, 5%- та 20%-ного гліцерину. Пояснити причину продихових рухів.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Як регулюється робота продихів?
2. Механізми продихового регулювання транспірації.
3. Типи продихових реакцій.

Питання для обговорення та самоперевірки до Розділу 1

1. Яке значення має вода в життєдіяльності рослинного організму?
2. Які особливості структури молекул води визначають її фізичні та хімічні властивості?
3. Яке значення мають дифузія і осмос для рослинної клітини? Поясніть, які сили зумовлюють надходження води в клітину.
4. Чому градієнт водного потенціалу є рушійною силою надходження та пересування води в рослині?
5. Який зв'язок між осмотичним тиском і водним потенціалом в умовах нормального атмосферного тиску?
6. Поясніть, чому у рослини, корені якої занурені в чисту воду, в разі додавання до неї солей можливе тимчасове в'янення, однак через короткий проміжок часу її тургор відновлюється.
7. Які шляхи води в рослині?
8. Які особливості має коренева система рослини в зв'язку з її функцією поглинання води із ґрунтового розчину?
9. Як регулюється процес надходження та процес випаровування води рослинами?
10. Дайте визначення транспірації. В чому різниця між продиховою та кутикулярною транспірацією?

РОЗДІЛ 2 ДИХАННЯ РОСЛИН

Тема 2.1. Загальне поняття про дихання у рослин

Утворені у процесі фотосинтезу вуглеводи та інші органічні речовини використовуються клітинами рослинного організму у якості поживних речовин, виступаючи одночасно джерелом пластичних сполук і енергії. Пластичні сполуки забезпечують побудову клітин рослинного організму, а частина із них окиснюється і перетворюється знову на АТФ, виступаючи джерелом енергії. Універсальним процесом, що забезпечує окиснення глюкози та її похідних у рослинних організмів виступає дихання.

Клітинне дихання – це окисний розпад органічних речовин на простіші, або ж неорганічні, що супроводжується виділенням енергії унаслідок розриву хімічних зв'язків у складі молекул, що окиснюються. Вивільнена енергія акцептується ферментами і акумулюється у вигляді фосфатних макроергічних зв'язків, в основному у складі молекул АТФ, і далі використовується клітиною для забезпечення протікання метаболічних процесів.

2.1.1. Історія розвитку вчення про дихання

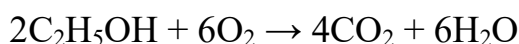
Початком дослідження процесів дихання у рослин є остання чверть XVIII століття, коли унаслідок роботи таких вчених, як Д. Прістлі та А. Лавуазьє вдалося встановити газовий склад повітря.

У 1780 р. Ян Інгенхауз встановив, що рослини поглинають кисень і виділяють вуглекислий газ. Пізніше, Антуан Лоран Лавуазьє встановив спорідненість процесів дихання та горіння і зробив висновок про те, що «...дихання – це повільне горіння». Основоположником вчення про дихання вважають Ніколя де Соссюра, автора натурфілософського трактату «Вогонь, або підстава плодоносності рослин і родючості землі» (1782 р.), котрий показав, що виділення вуглекислого газу і поглинання кисню у зелених рослин протікає лише у темряві, на противагу для не зелених цей процес характерний в темряві, і на світлі.

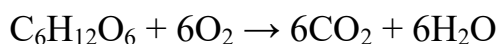
Анаеробне дихання вперше відкрив Луї Пастер і назвав це явище бродінням. Вільгельм Пфєффер вважав, що на першому етапі дихання відбувається спиртове бродіння:



Потім спирт окиснюється киснем до вуглекислого газу та води:



Сумарне рівняння цього процесу має такий вигляд:



Проте С.П. Костичевим було експериментально доведено, що спиртове бродіння не є першою фазою дихання і що ці два процеси взаємопов'язані спільними проміжними продуктами перетворення вуглеводів. С.П. Костичев обґрунтував теорію про генетичний зв'язок дихання і бродіння, згідно з якою анаеробний розпад цукрів – це початкова фаза, що є спільною для бродіння і дихання.

Також у цей період (кін. ХІХ ст.) було встановлено, що внаслідок розпаду 1 молекули глюкози в процесі дихання виділяється 2875 кДж/моль енергії.

Якщо для дихання вихідним субстратом є не вуглеводи, а білки чи жири, то енергетичний вихід буде дещо іншим. За умов спалювання на електрон-транспортних ланцюгах продуктів окиснення 1 г вуглеводів виділяється 17 кДж енергії, 1 г білків або жирів – 39 кДж.

Починаючи з 20-х років ХХ ст. значний вклад у пізнання природи дихання та його ферментативних механізмів внесли Г. Кребс, Д. Кейлін, А. Сентд'юрді, Г. Ембден, В.Л. Кретович, С. Очоа та інші. Учені довели, що перехід від анаеробних процесів бродіння до кисневого дихання набагато підвищив ефективність використання рослинами енергії, що міститься в хімічних зв'язках молекул поживних речовин. Така можливість у рослин виникла внаслідок симбіотичного об'єднання давнього предкового організму з альфа-протеобактерією, що в процесі еволюції перетворилася на мітохондрію, котра уже містить усі необхідні ферментні системи, що забезпечують перетворення субстратів дихання у клітині.

Механізми біологічного окиснювання намагалися пояснити багато вчених, висуваючи низку різноманітних гіпотез. Сучасне уявлення про процес дихання сформувався на основі окремих з них. Розглянемо найголовніші теорії дихального окиснення субстратів.

Як відомо, дихання – це окиснювальний процес, за якого складні органічні молекули (жири, білки чи вуглеводи) розпадаються на неорганічні компоненти (вуглекислий газ і воду), а значна частина енергії, що вивільняється унаслідок розриву хімічних зв'язків між атомами у складі цих органічних сполук, акумулюється у формі фосфатних зв'язків у молекулах АТФ.

Перші уявлення про роль кисню у диханні сформулював Антуан Лавуазьє, котрий показав спорідненість дихання і горіння, оскільки в обох цих процесах відбувається поглинання кисню і виділення вуглекислого газу та тепла. Отже, горіння, на думку вченого, це приєднання кисню до субстрату, а власне дихання – це повільне згорання органічних речовин у клітинах живого організму. Проте, горіння не протікає у воді, а лише у повітрі за участю кисню, а клітини рослинних організмів на 70–90 % складаються з води, тому виникло логічне запитання: яким саме чином протікає подібне горіння?

На нього спробував відповісти Х.Ф. Шейнбайн, котрий у 1845 р. запропонував теорію окиснювальних процесів, згідно якої у живих клітинах існують певні сполуки, що легко окиснюються молекулярним киснем, а тому здатні активувати його.

Олексій Миколайович Бах (1857 – 1946) продовжив наукову розробку цієї теорії і у 1897 р. запропонував власну пероксидну теорію біологічного

окиснення. Учений вважав, що молекулярний кисень може бути окиснювачем лише в активованому стані, тобто коли розриваються зв'язки між його атомами:

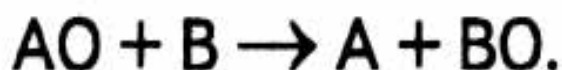
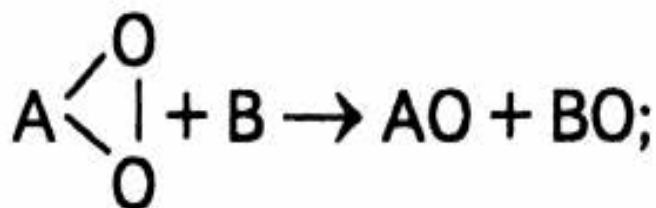


Молекулярний кисень



Активований кисень

Це відбувається за допомогою енергії, що постачається тією речовиною, яка окиснюється. Внаслідок активації кисню сполукою А (оксигеназою), утворюється пероксид (АО), який є нестійким і також може окиснювати субстрат (В):

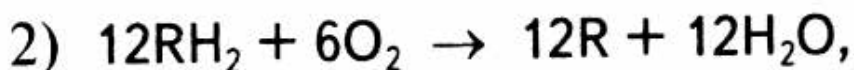
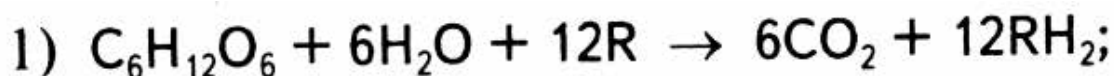


Теорія О.М. Баха ґрунтується на ідеї активації кисню і хоча сьогодні відомо, що шлях залучення до складу органічних сполук кисню не має стосунку до процесу дихання, ці погляди лягли в основу сучасного уявлення про механізми активації молекулярного кисню.

У 1925 р. Д. Кейліном було відкрито цитохромоксидазу у клітинах живих організмів, а також інші цитохроми. Це відкриття допомогло встановити, що саме ці сполуки забезпечують транспортування електронів і протонів на молекулярний кисень з наступним утворенням пероксидів чи води.

На основі такої пероксидної теорії, О.М. Бах запропонував ще одну гіпотезу, у якій процес біологічного окиснення учений поєднав із відняттям електронів і протонів від субстрату, а роль кисню звів лише до регенерації окисненого первинного акцептора водню до відновленого стану. Подальшого розвитку цій гіпотезі надав В. І. Палладін у своїй теорії дихальних хромогенів.

Володимир Іванович Палладін (1859 – 1922) на основі теорії О.М. Баха, розробив теорію хромогенів. Дихання відбувається за допомогою дихальних хромогенів, які внаслідок окиснення перетворюються на пігменти, які, відновлюючись, знову стають хромогенами. Тобто дихальні хромогени виступають акцепторами кисню, а пігменти – водню:



Забарвлені пігменти (R) реагують з субстратом, акцептуючи з нього водень й перетворюються на безбарвні хромогени (RH₂), які окиснюються киснем і знову стають пігментами.

Наукова ідея В.І. Палладіна про те, що у живій клітині функціонують специфічні ферменти-переносники атомів водню, що забирають їх від субстратів і води, випередила рівень тогочасних наукових знань. На сьогодні відомо, що для забезпечення процесу дихання однаково потрібні активатори водню та активатори кисню, тому можна вважати, що в основі сучасних уявлень про механізми біологічного окиснення лежать обидві теорії.

Основні положення теорії Баха-Палладіна:

1. Обов'язковим учасником дихання є вода.
2. Вода, поряд із субстратом, який окиснюється, виконує функцію донора водню.
3. У процесі дихання беруть участь специфічні активатори водню, які вилучають водень від субстрату.
4. Перші етапи дихання є анаеробними й не вимагають присутності молекулярного кисню.
5. Молекулярний кисень необхідний на завершальному етапі дихання для регенерації акцепторів водню з утворенням води.

2.1.2. Основні шляхи окислення дихальних субстратів

Окиснення субстратів під час дихання забезпечують ферменти, або ензими. Ферменти, що є біокаталізаторами, мають низку особливостей, основні з них – це специфічність, лабільність і висока активність. Такі властивості надають можливість чітко регулювати на молекулярному рівні обмін речовин у клітині.

У природі відомо чотири шляхи окиснення речовин:

1. Відщеплення електронів (e⁻).
2. Відщеплення водню (катіонів H⁺).
3. Приєднання кисню (O₂).
4. Синтез проміжної сполуки, яка є гідратованою та наступне відщеплення від неї двох протонів і електронів.

Оксидоредуктази

Окиснення однієї речовини (донора електронів чи катіонів H⁺) спряжене з відновленням іншої – акцептора цих компонентів. Ці реакції є ферментативними і каталізуються оксидоредуктазами. Відомо кілька груп оксидоредуктаз.

Анаеробні дегідрогенази – ферменти, що переносять електрони на інші проміжні сполуки (також акцептори), або передають їх аеробним дегідрогеназам, проте ніколи не молекулярному кисню. Молекули цих ферментів складні й побудовані із коферменту (НАД⁺ (малат-, лактат- або алкогольдегідрогенази) чи НАДФ⁺ (глюкозофосфат-, ізоцитратдегідрогенази)). Під час окиснення субстрату, кофермент НАД⁺ або НАДФ⁺ переходить у відновлену форму, приєднуючи електрони і водень і перетворюється на НАД•Н або НАДФ•Н.

Аеробні дегідрогенази – ферменти-флавопротеїни, що переносять електрони на різноманітні акцептори, включно з молекулярним киснем. Вони також складні і містять білковий апофермент та міцно зв'язану з ним простетичну групу – вітамін В₂ рибофлавін. Виділяють два типи коферментів у цих ензимів: флавінаденіндинуклеотид (ФАД) та флавінмононуклеотид (ФМН).

Оксидази – ферменти, що здатні переносити електрони лише безпосередньо на молекулярний кисень. Унаслідок цього утворюються такі продукти:

- вода – на O₂ потрапляє 4 e⁻;
- пероксид водню – на O₂ потрапляє 2 e⁻,
- супероксидний аніон кисню (O²⁻) – на O₂ потрапляє 1 e⁻.

H₂O₂ і O²⁻ – це високоактивні токсичні сполуки, тому в протопластах клітин негайно нейтралізуються, перетворюючись на воду та кисень.

З-поміж оксидаз окрему роль відіграють залізовмісні ферменти-цитохроми. Сюди належать цитохроми в, с, с₁ та цитохромоксидаза а + а₃. Ці ферменти транспортують електрони від флавопротеїнів до кисню. У дихальному електрон-транспортному ланцюгу напрямок руху електронів по його ланках регулюється значенням окисно-відновного потенціалу розташованих на мембранах поруч компонентів-цитохромів:



Усі учасники системи цитохромів, що належить до дихальних електрон-транспортних ланцюгів, містять залізо-порфіринову простетичну групу. Інгібіторами дії цитохромоксидази є азид, СО та ціанід У мітохондріях клітин рослин функціонує специфічна альтернативна оксидаза, що не сприймає інгібуючу дію вказаних сполук. У рослинних організмах трапляються також і немітохондріальні оксидази – це, наприклад, каталаза, різні пероксидази, аскорбатоксидаза чи поліфенолоксидаза.

Оксигенази – ферменти, що активують кисень, унаслідок чого він приєднується до різних органічних сполук. Розрізняють:

- *диоксигенази* – реагують з двома атомами кисню;
- *гідроксилази (монооксигенази)* – реагують з одним атомом кисню.

Як донора e⁻ оксигенази використовують НАД(Ф)•Н, ФАД•Н₂ та ін. Беруть участь у гідроксилуванні багатьох ендогенних сполук (амінокислот, фенолів, стеринів), а також у детоксикації чужорідних токсичних речовин.

2.1.3. Зв'язок між диханням і бродінням

У процесі життєдіяльності рослинних організмів відбувається чергування процесів двох типів:

Анаболітичні (асиміляція) – синтез складніших речовин з простіших попередників. Потребують затрат енергії.

Катаболічні (дисиміляція) – розпад складних речовин на простіші з виділенням енергії. Катаболічні процеси поділяються на два типи:

Бродіння – анаеробний процес розпаду органічних речовин на простіші, що супроводжується виділенням енергії.

Дихання – аеробний процес розпаду органічних речовин на неорганічні, що супроводжується виділенням енергії.

Отже, дихання і бродіння – фізіологічно тотожні процеси, що призводять до розпаду органічних речовин з виділенням енергії. Дихання, як енергетичноємніший процес, є еволюційно прогресивнішим і розвивається із бродіння, що притаманне в більшості простішим організмам (в основному прокаріотам). Спільним етапом дихання і бродіння є гліколіз, що призводить до розщеплення глюкози на дві молекули пірвіноградної кислоти, яка в подальшому або перетворюється до низькомолекулярних органічних речовин (анаеробні умови, бродіння), або мінералізується (аеробні умови, дихання).

Тема 2.2. Основний шлях дихання

Етапи основного шляху дихання. Дихання розпочинається із деполімеризації складних запасних речовин, які найчастіше є полімерними сполуками. Відбувається власне гідроліз субстрату дихання. Якщо таким субстратом є вуглеводи (у рослин найчастіше саме вони й виступають дихальним субстратом), то в результаті їхнього гідролізу виділяються моносахариди, оскільки вони є мономерами полісахаридів (крохмалю). У випадку гідролізу жирів утворюється гліцерин, а білків – амінокислоти.

Моносахариди (глюкоза) розпадаються в процесі дихання у три етапи:

1. Гліколіз – протікає анаеробно у гіалоплазмі цитоплазми клітин і для його реакцій не потрібен кисень. Продуктом гліколізу є дві молекули пірвіноградної кислоти на одну молекулу глюкози.

2. Цикл Кребса – протікає анаеробно у матриксі мітохондрій, але для його реакцій необхідна наявність молекулярного кисню в субстраті, оскільки він є тригером цього циклу. У циклі Кребса відбувається мінералізація пірватату до вуглекислого газу і відновлення коферментів НАД•Н₂ і ФАД•Н₂, які є досить агресивними сполуками у відновленому стані й можуть отруювати клітини. Оскільки, окиснення цих сполук відбувається на наступному етапі за участю кисню, саме наявність його у субстраті й є визначальною умовою синтезу цих сполук.

3. Дихальний електро-транспортний ланцюг – протікає аеробно, але кисень безпосередню участь бере лише в останній окисно-відновній реакції цього етапу, виступаючи кінцевим акцептором електронів і катіонів Н⁺. На цьому етапі відбувається окиснення відновлених коферментів НАД•Н₂ і ФАД•Н₂ з виділенням води.

2.2.1. Гліколіз (Шлях Ембдена–Мейергофа–Парнаса)

Шлях Ембдена–Мейергофа–Парнаса (шлях ЕМП), або гліколіз – це метаболічне перетворення, що забезпечує розщеплення однієї молекули глюкози до двох молекул пірвіноградної кислоти та синтезу АТФ. Відбувається у гіалоплазмі (чи як ще її називають – цитозолі), делокалізовано – гліколітичні ферменти не концентровані у якійсь певній органелі, а зібрані у

мультиензимні комплекси, котрі дислокуються на мікрофіламентах цитоскелету по всій клітині. У розшифруванні реакцій цього шляху брали участь троє учених: Густав Ембден (1874 – 1933), Отто Фріц Мейергоф (1884 – 1951) та Якуб Кароль Оскарівч Парнас (1884 – 1949). Гліколіз є загальним спільним етапом аеробного дихання і більшості видів бродіння. Протікає у три етапи.

I Етап гліколізу (підготовчий)

На цьому етапі відбувається перетворення 1 молекули глюкози на 2 молекули фосфотріоз (3-фосфогліцеринового альдегіду та дигідроацетонфосфату).

Першою реакцією цього етапу є фосфорилювання глюкози (піранозної форми її молекули) до глюкозо-6-фосфату під дією АТФ, котра є донором як енергії, так і фосфору, що необхідні для формування макроергічного фосфатного зв'язку на шостому карбоні молекули глюкозо-6-фосфату. Необхідна енергія вивільняється унаслідок гідролізу фосфатного зв'язку в АТФ, унаслідок чого остання перетворюється в АДФ (аденозиндифосфат, що містить лише два макроергічних фосфатних зв'язки). Каталізує цю реакцію гексокіназа (рис. 2.1.).

Утворений глюкозо-6-фосфат, за дії гексозофосфатізомерази, перетворюється у фруктозо-6-фосфат (рис. 2.2.), унаслідок зміни зв'язків між атомами по першому та другому карбоні скелету молекули та просторового положення груп в молекулі глюкозо-6-фосфату, що призводить до утворення її ізомеру – фруктозо-6-фосфату. Така трансформація є необхідною для синтезу лабільнішого варіанту молекули гексози – т. зв. фуранозної її форми.

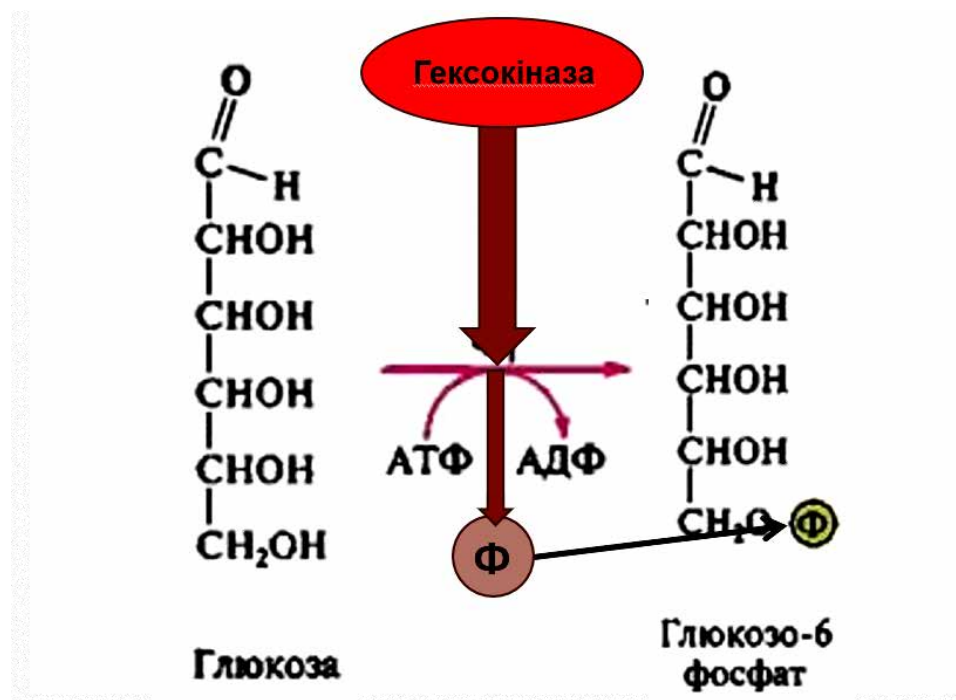


Рис. 2.1. Фосфорилювання глюкози до глюкозо-6-фосфату

Фруктозо-6-фосфат далі реагує ще з одним АТФ, унаслідок чого його молекула із монофосфату фосфорилується у дифосфат, що називається фруктозо-1,6-дифосфатом. Каталізує реакцію фермент фосфофруктокіназа (рис. 2.3.).

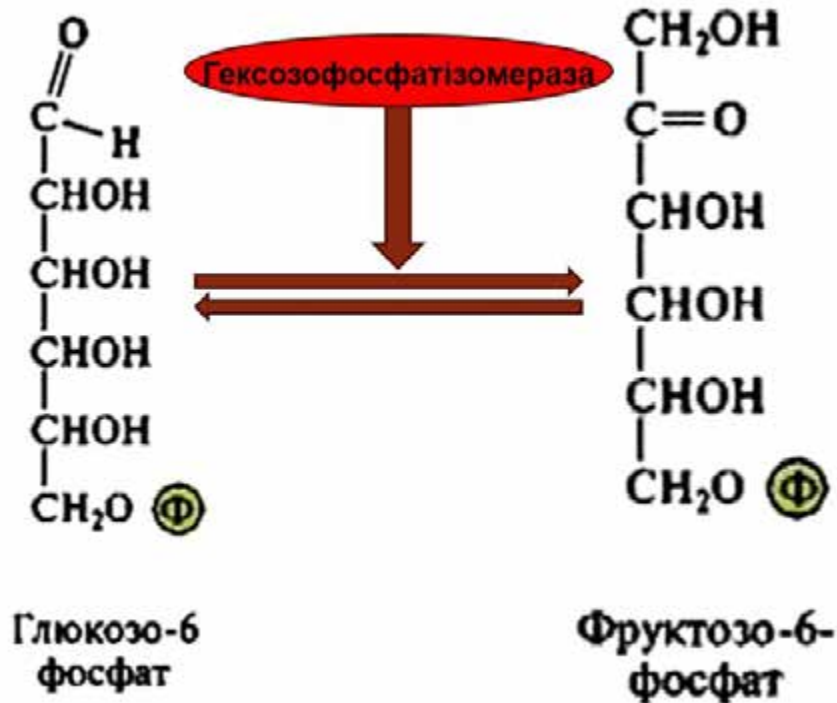


Рис. 2.2. Ізомеризація глюкозо-6-фосфату до фруктозо-6-фосфату

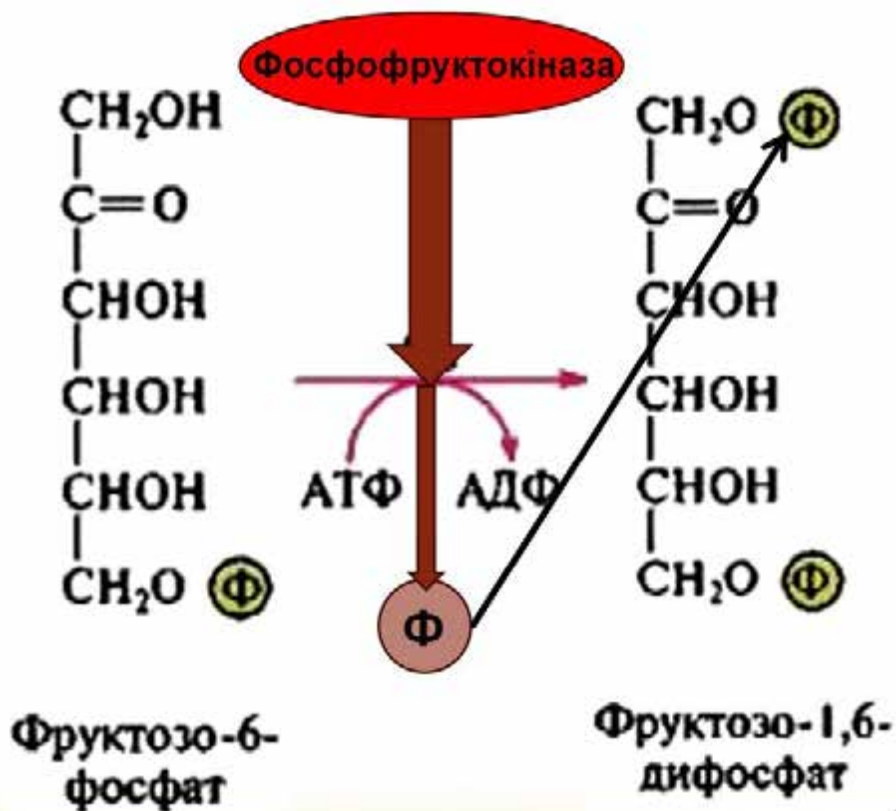


Рис. 2.3. Утворення фруктозо-1,6-дифосфату

Фруктозо-1,6-дифосфат – це форма молекули гексози, що є лабільною й у ній фосфатні групи розташовані симетрично. Ці групи мають негативний заряд тому електростатично відштовхуються одна від іншої. Ця форма молекули гексози легко розщеплюється за допомогою фермента альдолази (що належить до класу ліаз), до двох фосфотріоз – дигідроацетонфосфату й 3-фосфогліцеринового альдегіду (рис. 2.4.).

Реакція протікає без участі води. Завершає перший етап гліколізу реакція ізомеризації утворених фосфотріоз, котрі можуть перетворюватися одна в іншу за дії тріозофосфатізомерази (рис. 2.5.). Ці реакції протікають як в одну, так і в іншу сторону, проте гліколіз продовжуватиметься тоді, коли у середовищі із синтезованих раніше 3-фосфогліцеринового альдегіду й дигідроацетонфосфату сформується 2 молекули 3-фосфогліцеринового альдегіду, тобто ізомеризується лише один дигідроацетонфосфат.

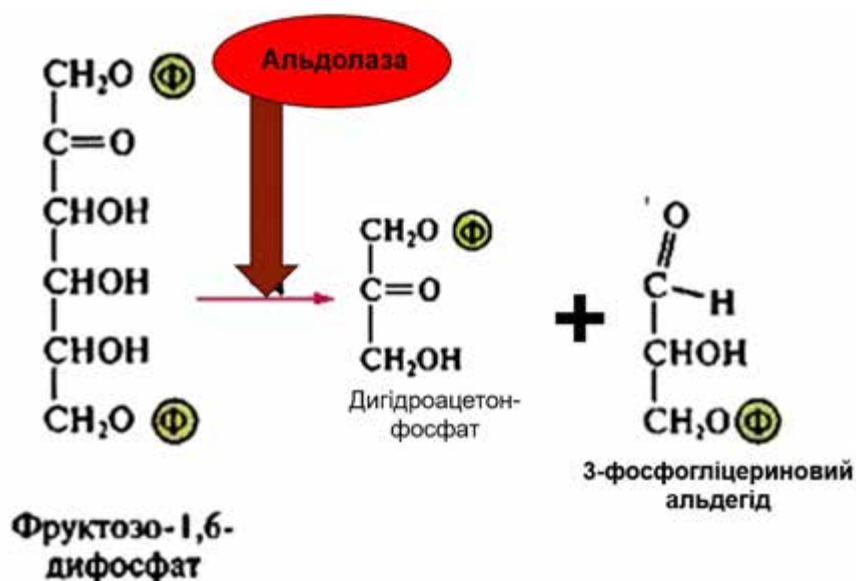


Рис. 2.4. Розпад фруктозо-1,6-дифосфату й утворення двох фосфотріоз



Рис. 2.5. Взаємоперетворення фосфотріоз (фосфодіоксиацетону і 3-фосфогліцеринового альдегіду)

II Етап гліколізу (перше субстратне фосфорилування)

Розпочинається цей етап окисненням 2 молекул 3-фосфогліцеринового альдегіду, а закінчується утворенням відповідно двох молекул 3-фосфогліцеринової кислоти.

Першим перетворенням цього етапу гліколізу є єдина у циклі окисно-відновна реакція, у якій дві молекули 3-фосфогліцеринового альдегіду, утворені на попередньому етапі гліколізу, окиснюються до 1,3-дифосфогліцеринової кислоти. Каталізує це перетворення складний мультиферментний комплекс, що називається гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогеназою і побудований чотирма ідентичними субодинацями. До його складу належать також SH-групи та кофермент НАД. Мультиензимний комплекс спершу окиснює альдегідну групу до карбоксильної у молекулі 3-фосфогліцеринового альдегіду (рис. 2.6). Супроводжується цей процес окиснення виділенням енергії, котра використовується ферментом для утворення фосфатного зв'язку у молекулі окисненого до кислоти альдегіду за допомогою приєднання неорганічного фосфору. Під час окиснення альдегідної групи донором електронів є НАД⁺, який приєднує гідроген і відновлюється до НАД•Н₂.

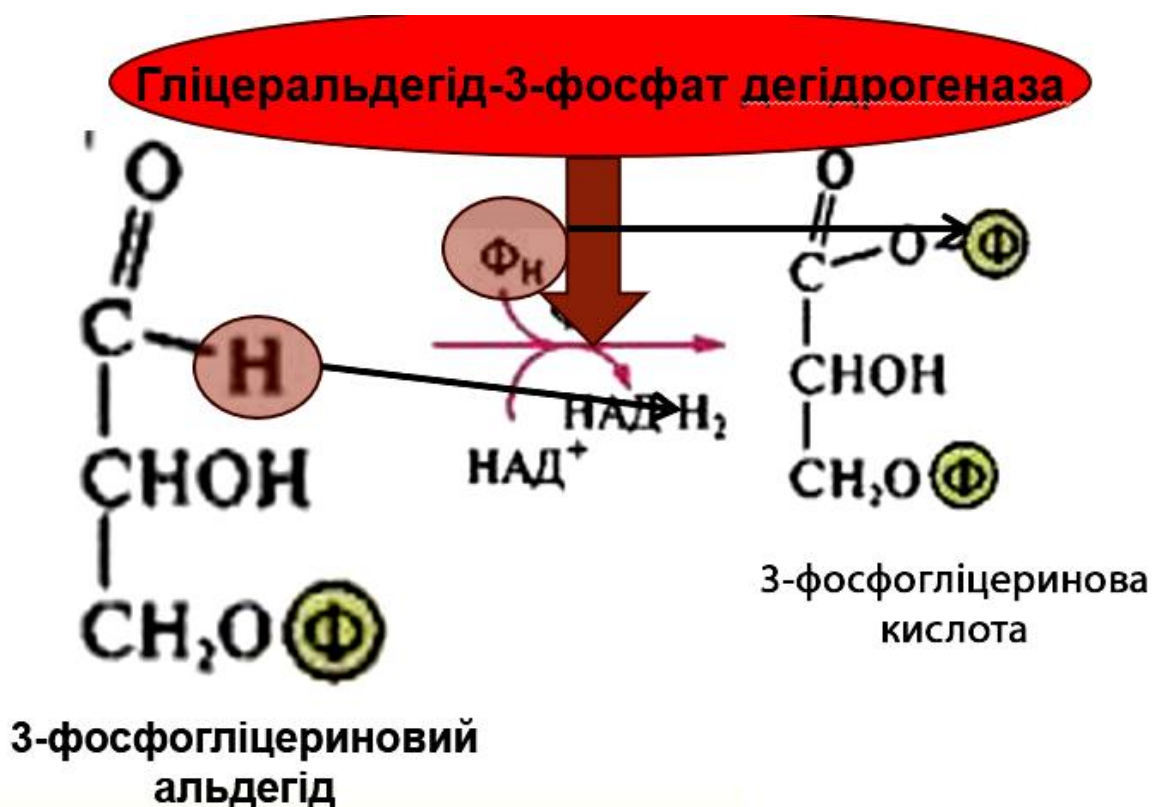


Рис. 2.6. Єдина окисно-відновна реакція гліколізу

Утворені 1,3-дифосфогліцериніві кислоти, за дії фосфогліцераткінази, дефосфорилуються з відщепленням одного фосфору до 3-фосфогліцеринівих кислот (2 молекул) й виходом по одній молекулі АТФ у кожній реакції. Фосфатний залишок ацилфосфатної групи 1,3-дифосфогліцериніві кислоти переноситься на АДФ (рис. 2.7.). Частина виділеної (близько 50 кДж•моль⁻¹), а

саме $30 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$, витрачається для синтезу АТФ; решта – близько $20 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ – виділяється у навколишнє середовище. Такі реакції називають субстратним фосфорилуванням, оскільки у них відбувається власне фосфорилування молекул АТФ за рахунок субстрату. У гліколізі цю реакцію називають першим субстратним фосфорилуванням, адже субстратом для фосфорилування АТФ у ній виступає безпосередньо субстрат, котрим є 1,3-дифосфогліцерина кислота.

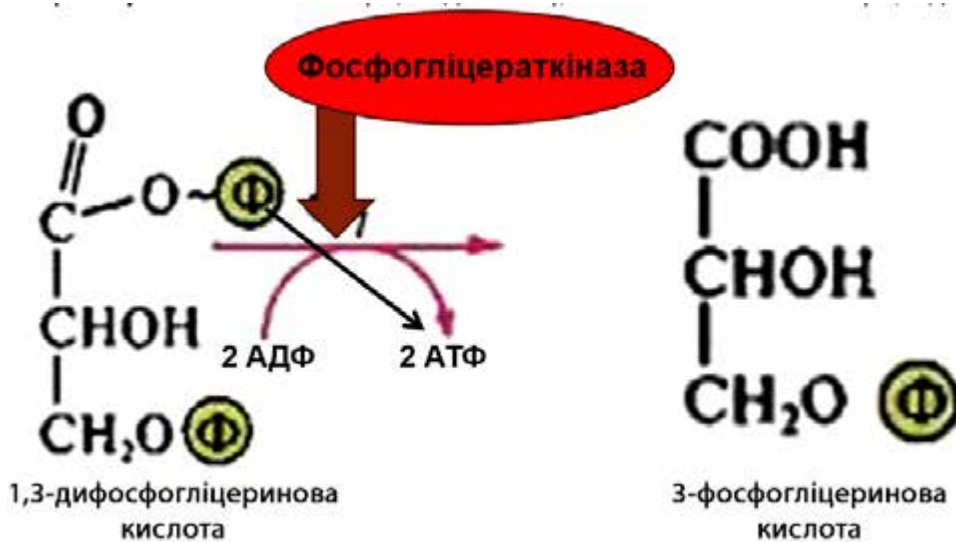


Рис. 2.7. Перше субстратне фосфоритування

III Етап гліколізу (друге субстратне фосфорилування)

Це завершальний етап, котрим закінчується гліколіз.

Першим перетворенням цього етапу є трансформація двох молекул 3-фосфогліцеринової кислоти, шляхом міграції фосфатного зв'язку із третього на другий карбон, на 2-фосфогліцеринову кислоту (також дві молекули відповідно). Каталізує цю реакцію фосфогліцератмутаза (рис. 2.8.).

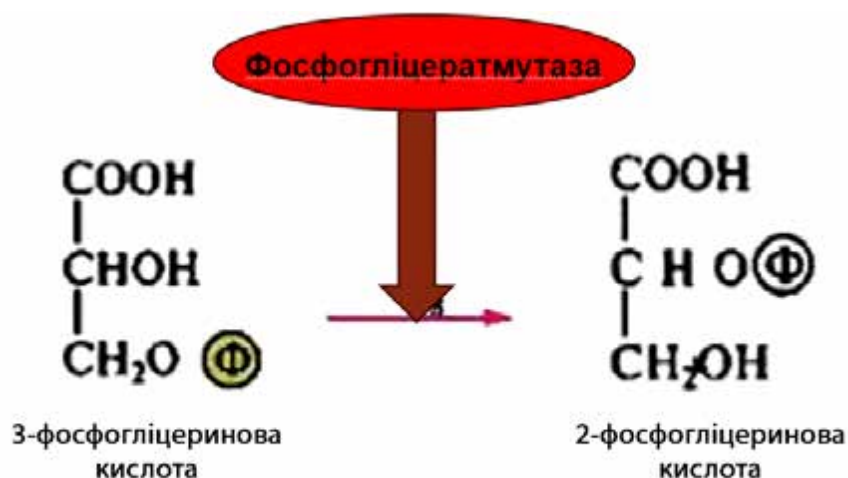


Рис. 2.8. Утворення 2-фосфогліцеринової кислоти

Дві молекули 2-фосфогліцеринової кислота, унаслідок дегідратації її молекули енолазою, трансформується на дві молекули фосфоенолпіровиноградної кислоти. Цей процес спряжений із перерозподілом енергії усередині молекули, унаслідок чого утворюється (регенерує) макроергічний зв'язок, котрий містить $62 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$ енергії (рис. 2.9.).

Завершальною реакцією гліколізу є реакція другого субстратного фосфорилування. У ній протікає дефосфорилування двох фосфоенолпіровиноградних кислот, спряжене із утворенням двох АТФ. Залишок фосфору високоенергетичної фосфоенолпіровиноградної кислоти транспортується на АДФ й утворюється АТФ та енолпіровиноградна кислота, котра, приєднуючи гідроген, трансформується на піровиноградну кислоту (рис. 2.10.). Каталізує ці перетворення піруваткіназа.

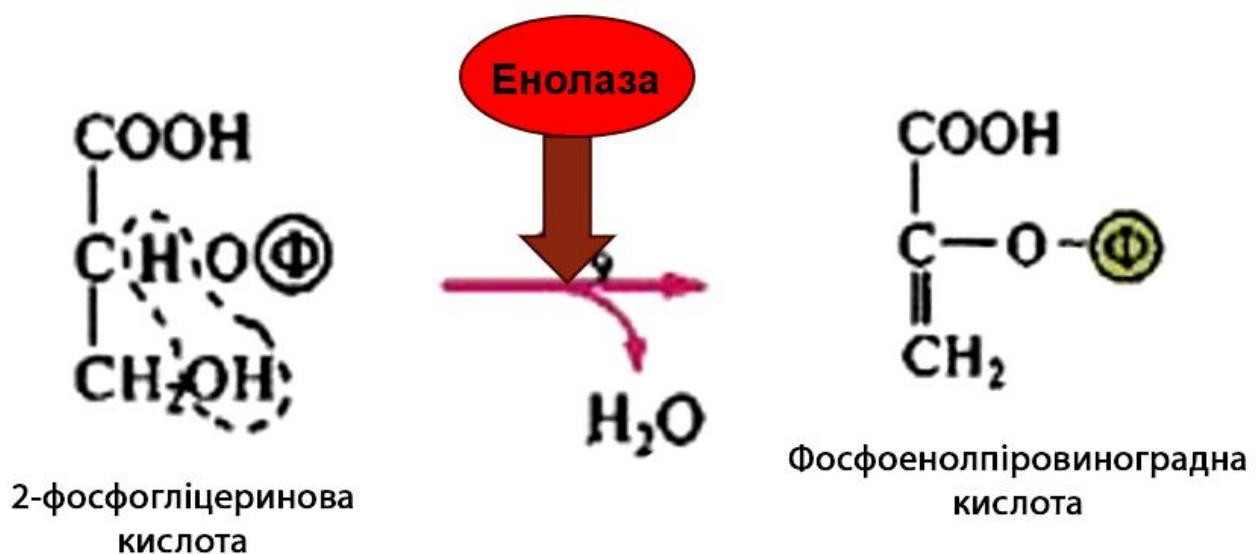


Рис. 2.9. Утворення фосфоенолпіровиноградної кислоти



Рис. 2.10. Друге субстратне фосфорилування

Отже, у гліколізі синтезується 4 АТФ унаслідок першого та другого субстратного фосфорилувань. Проте, 2 молекули АТФ використовуються на

перших етапах гліколізу для фосфорилювання гексоз, тому чистий вихід АТФ цього процесу становить дві молекули.

Однак, унаслідок окисно-відновної шостої реакції відновлюються дві молекули НАД•Н₂, які є енергетичним еквівалентом 6 АТФ, адже окиснення кожної з них у мітохондріях на дихальних електрон-транспортних ланцюгах (третій етап дихання), дає вихід трьох АТФ. Тому, енергетичний баланс гліколізу становитиме 8 АТФ на одну молекулу глюкози.

2.2.2. Цикл Кребса

У 1937 р. англійським біохіміком Гансом Адольфом Кребсом (1900 – 1981) запропонована схема окислення ди- і трикарбонових кислот до вуглекислого газу через "цикл лимонної кислоти" (або цикл трикарбонових кислот), за рахунок відщеплення від них водню. Ганс Кребс розшифрував послідовність реакцій циклу перетворення трикарбонових кислот у процесі дихання тваринних організмів, а у 1939 р. англійський дослідник А. Чібнел довів наявність цього циклу й у рослин. За це відкриття, Ганс Кребс спільно з Фріцем Ліпманом, у 1953 р. був удостоєний Нобелівської премії з фізіології та медицини. Пізніше цикл трикарбонових кислот названий у честь свого першовідкривача циклом Кребса.

Це другий у процесі дихання етап перетворень, у якому дві молекули піровиноградної кислоти, що утворилися внаслідок гліколітичного розщеплення глюкози, за наявності кисню, мінералізуються до вуглекислого газу з виділенням трьох молекул води на молекулу пірувату.

В еукаріотів усі реакції циклу Кребса протікають усередині мітохондрій, причому ферменти, що їх каталізують, окрім одного, знаходяться у вільному стані в мітохондріальному матриксі, виняток становить лише сукцинатдегідрогеназа, котра локалізована на внутрішній мітохондріальній мембрані (кростах) і вбудована у її фосфоліпідний каркас. У прокаріотів реакції циклу протікають у гіалоплазмі цитоплазми.

Безпосередньо у циклі Кребса окиснюється не сам піруват, який є продуктом гліколізу, а його похідне ацетил-КоА. Ця речовина утворюється в мітохондріях унаслідок складних перетворень окиснювального декарбоксілювання пірувату за участі піруватдегідрогеназного мультиферментного комплексу, що складається з 3 ферментів і 5 коферментів (тіамінпірофосфат, ліпоєва кислота, КоА-SH, НАД⁺, ФАД⁺). Це перетворення є зв'язною ланкою між гліколізом і циклом Кребса (рис. 2.11.).

Мітохондрії – це симбіогенні двомембранні органели, що відповідно вкриті зовнішньою і внутрішньою мембранами, перша з яких є частиною плазмалеми великого симбіонта, що утворилася внаслідок формування фагоцитарного пухирця під час захоплення ним малого симбіонта, а друга – колишньою плазмалемою власне малого симбіонта (альфа-протеобактерії), що перетворилася унаслідок ендосимбіотичної еволюції у мітохондрію. Зовнішня мембрана мітохондрії містить транспортні білки, що забезпечують її проникність для більшості макромолекул, а на внутрішній – присутні лише транспортні системи, що переносять тільки піровиноградну кислоту й АТФ.

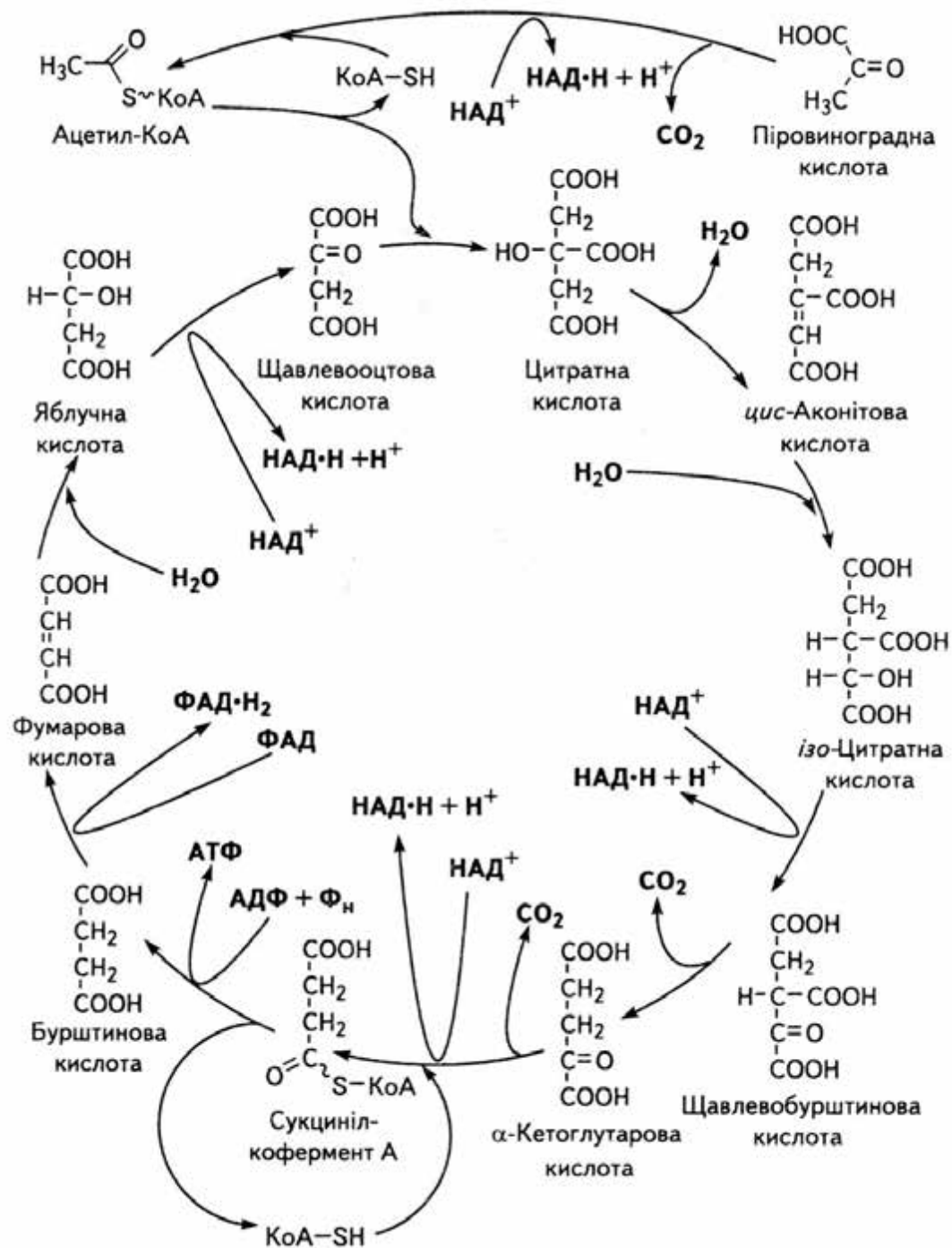


Рис. 2.11. Послідовність реакцій циклу Кребса (за М. Мусієнко, 2005)

Усередині мітохондрія, як відомо, заповнена матриксом (колоїдною масою), у якій містяться ферменти, що забезпечують протікання циклу Кребса. Для того, щоб цикл розпочався, потрібне транспортування продуктів першого етапу дихання (гліколізу), а саме пірувату, усередину мітохондрії крізь обидві її мембрани у матриксі. Усі наступні мітохондріальні реакції, на відміну від гліколітичних, протікають виключно в аеробних умовах за наявності молекулярного кисню, тобто цикл Кребса є облігатно аеробним. Проте, сам кисень в жодній реакції циклу Кребса участі не бере, а є лише тригером його ферментативних перетворень. Така залежність протікання циклу Кребса від наявності кисню в матриксі мітохондрій, зумовлена утворенням кінцевих

продуктів циклу, а саме великою кількістю відновлених коферментів НАД•Н₂ і ФАД•Н₂, що є небезпечними і потребують негайного окиснення, що забезпечується дихальними електрон-транспортними ланцюгами (третій етап дихання) з використанням кисню. Хоча сам цикл Кребса міг би протікати й анаеробно, проте в цих умовах відбувалося б накопичення відновлених коферментів, що призвело б до руйнування клітинних компартментів, тому регуляція реакцій дихання запобігає запусканню утворення цих коферментів, тобто початку циклу Кребса.

Піруват (2 молекули з 1 глюкози), що утворився унаслідок гліколізу у гіялоплазмі, надходить у матрикс мітохондрії, де під дією мультиферментного комплексу вступає в реакцію окисного декарбоксілювання, унаслідок якої спершу відщеплюється водень від пірувату й переноситься на кофермент НАД⁺, котрий відновлюється до НАД•Н₂, а з молекули пірувату залишається ацетильна група (рис. 2.12.). Супроводжується реакція мінералізацією одного органічно зв'язаного карбону до неорганічного СО₂, тобто трикарбоний скелет пірувату втрачає одну ланку й залишається з нього лише двокарбонова ацетильна група. Унаслідок приєднання цієї ацетильної групи до коферменту ацилювання (КоА) утворюється складна комплексна сполука, власне ацетильна група – кофермент ацилювання, що скорочено називається ацетил-КоА. Два компоненти цієї молекули з'єднані макроергічним тіоефірним зв'язком, що виникає по місцю розташування сірки в молекулі КоА, що здатна звільнитися від водню й приєднувати органічні молекули, у цьому випадку ацетильну групу пірувату. З цієї комплексної молекули, ацетильна група може переноситися на інші акцептори, внаслідок чого подовжуються їхні вуглецеві ланцюги, або ж змінювати макроергічний тіоефірний зв'язок фосфатним.

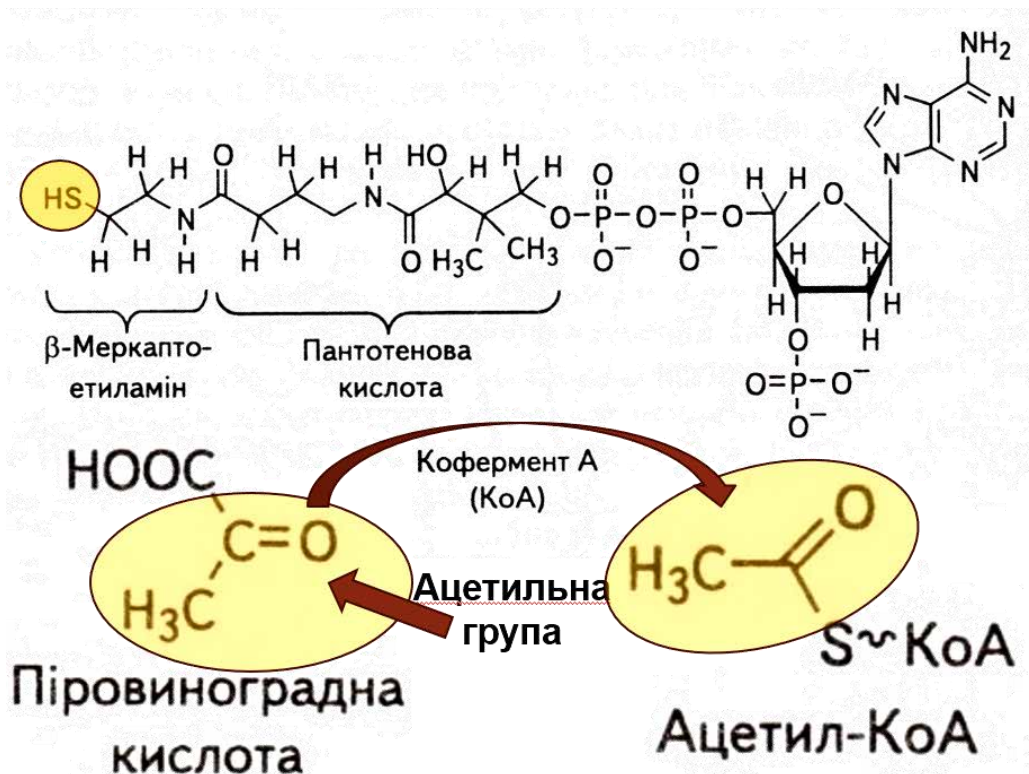


Рис. 2.12. Утворення ацетил-КоА з пірувату та коферменту ацилювання

У циклі Кребса, окрім зв'язної реакції, виділяють вісім етапів.

1. Розпочинається власне цикл трикарбонових кислот реакцією конденсації ацетил-КоА та щавелевооцтової кислоти з утворенням цитратної кислоти. Подовження вуглецевого ланцюга щавелевооцтової кислоти відбувається з використанням енергії тіоефірного зв'язку в молекулі ацетил-КоА, що розривається. Каталізує реакцію цитратсинтетаза (рис. 2.13.). Отже, первинним акцептором ацетильної групи пірувату у циклі Кребса виступає чотирикарбонова щавелевооцтова кислота, основним ферментом цитратсинтетаза, а первинним продуктом циклу є шестикарбонова цитрат (лимонна кислота).

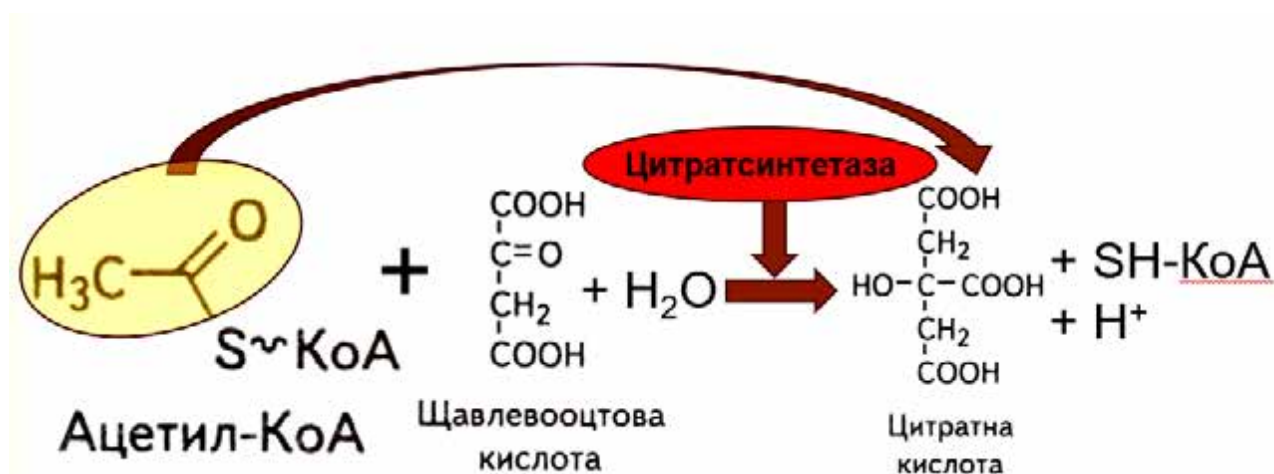


Рис. 2.13. Перша реакція циклу Кребса, що призводить до утворення лимонної кислоти

2. Далі відбувається ізомеризація цитрату в ізоцитрат з проміжним утворенням цис-аконітової кислоти. Це перетворення відбувається у дві реакції, перша з яких пов'язана з дегідратацією цитрату й утворенням цис-аконітової кислоти, а друга – з наступною гідратацією цис-аконітату до ізо-лимонної кислоти. Наслідком цих реакцій є неначе обмін місцями груп H^+ і OH^- між третім і четвертим карбонами скелету молекули лимонної кислоти (рис. 2.14.). Першу реакцію каталізує фермент цитраза, а другу – цис-аконітаза. Унаслідок цих реакцій відбувається взаємне переміщення H^+ і OH^- всередині молекули.

3. *Перша окисно-відновна реакція.* Це комплекс перетворень, у якому ізолимонна кислота спершу окиснюється за рахунок НАДФ^+ чи НАД^+ і перетворюється в нестійку щавлевобурштинову кислоту (оксалосукцинат), яка декарбоксилюється з виділенням CO_2 і, перетворившись в проміжну енольну сполуку, утворює α -кетоглутарову кислоту. Каталізує ці перетворення НАД -залежна ізоцитратдегідрогеназа (рис. 2.15.). У цій реакції продовжується мінералізація органічного залишку вхідної молекули пірувату, від якої наразі залишається лише один органічно зв'язаний карбон.

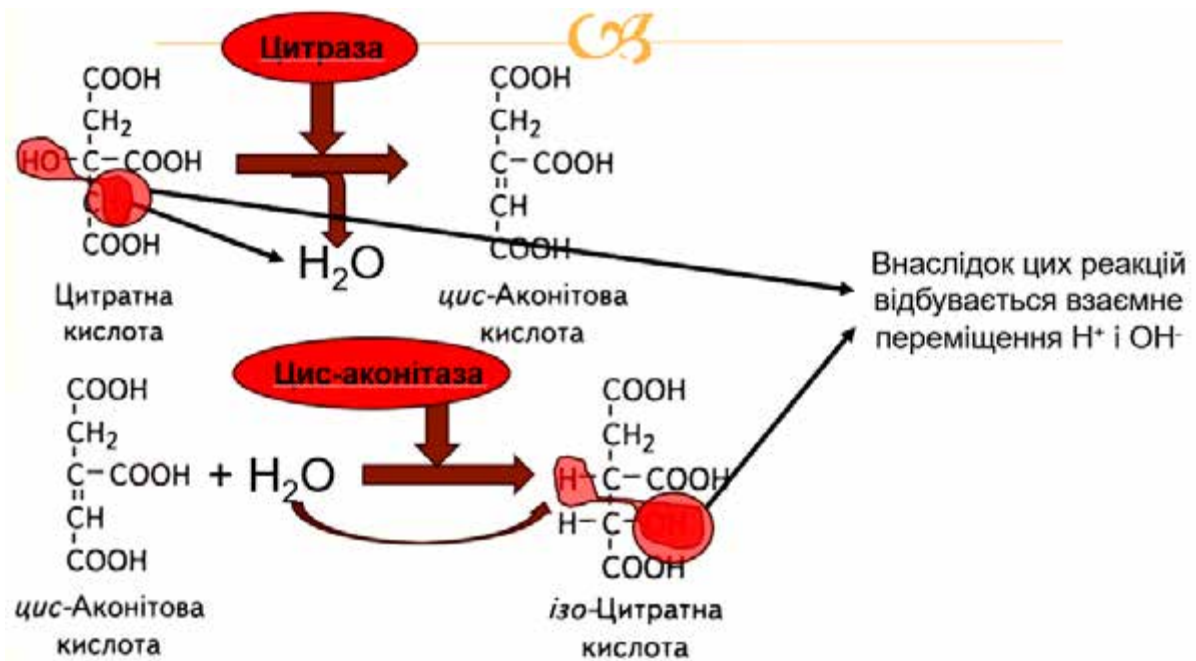


Рис. 2.14. Ізомеризація лимонної кислоти до ізо-цитрату

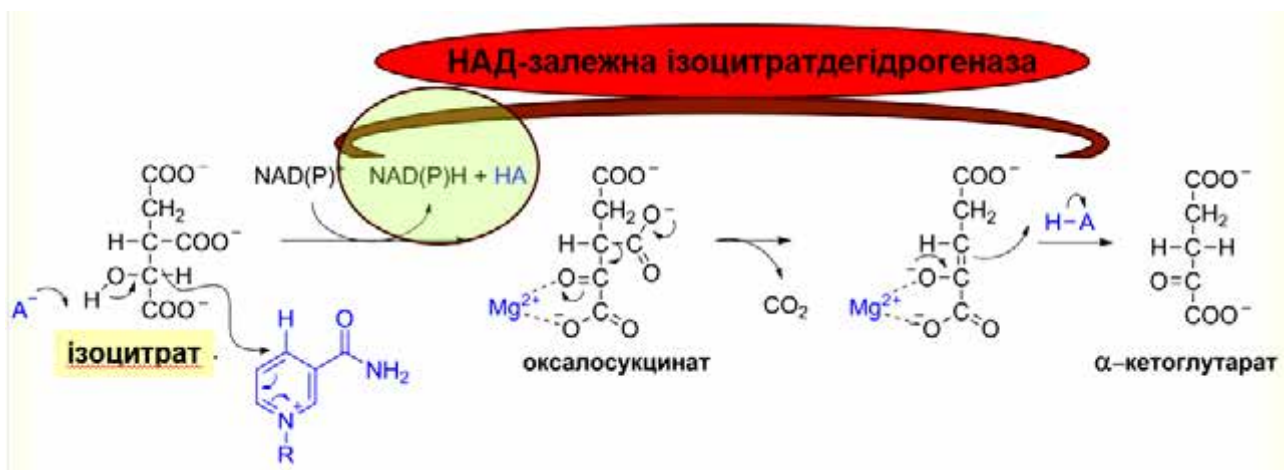


Рис. 2.15. Перша окисно-відновна реакція циклу Кребса

5. Друга окисно-відновна реакція. За першою, відразу протікає друга ОВР, у якій α-кетоглутарова кислота окиснюється реагуючи з НАД⁺ і SH-КоА. Це також реакція окисного декарбоксілювання, що завершує мінералізацію пірувату й органічна частина молекул, що беруть участь у циклі, виходить на рівень чотирикарбовенового первинного акцептора (щавелевооцтової кислоти), що далі не зменшується. У результаті реакції утворюється комплексна сполука сукциніл-КоА, яка складається з утвореного унаслідок окиснення α-кетоглутарату залишку бурштинової кислоти (сукцинілу), котрий переноситься на кофермент ацилювання, що є частиною мультиферментного комплексу, що каталізує цю реакцію, з утворенням макроергічного тіоефірного зв'язку між цими компонентами. Каталізує реакцію α-кетоглутарат-дегідрогеназний мультиферментний комплекс (рис. 2.16.).



Рис. 2.16. Друга окисно-відновна реакція циклу Кребса

6. *Субстратне фосфорилування.* Єдина в циклі реакція субстратного фосфорилування, в якій безпосередньо утворюється макроергічний фосфатний зв'язок й синтезується АТФ. Енергія для фосфорилування АТФ постачається від гідролізу тіоефірного зв'язку в молекулі сукциніл-КоА, який розпадається на сукциніл, що приєднуючи групу OH^- , перетворюється на бурштинову кислоту (сукцинат), а кофермент А звільняється в середовище, приєднавши до сірки H^+ . Каталізує реакцію сукцинатсинтаза (рис. 2.17.).

7. *Третя окисно-відновна реакція.* У цій реакції відбувається окиснення бурштинової кислоти (сукцинату) до фумарової кислоти. Акцептором йонів водню виступає флавінаденіндинуклеотид (ФАД). Каталізує реакцію сукцинатдегідрогеназа (рис. 2.18.). Цей фермент, на відміну від інших ферментів циклу Кребса, розташований у матриксі мітохондрії, локалізований на її внутрішніх мембранах (кристах) і безпосередньо зв'язаний з третім мультиферментним комплексом дихального електрон-транспортного ланцюга (див. третій етап дихання).

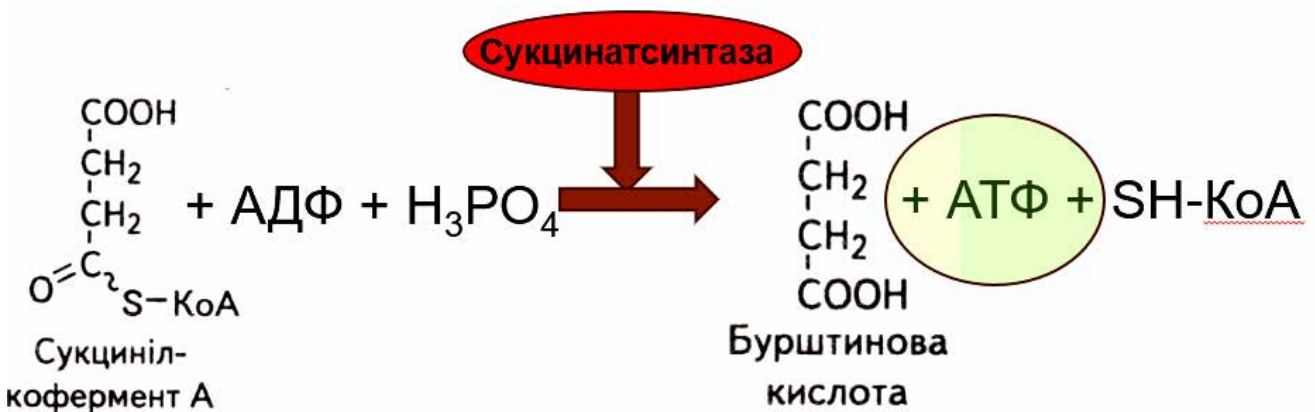


Рис. 2.17. Реакція субстратного фосфорилування



Рис. 2.18. Третя окисно-відновна реакція циклу Кребса

8. Далі відбувається гідратація фумарової кислоти з утворенням малату (яблучної кислоти). Каталізує реакцію фумараза (рис. 2.19.).

9. *Четверта окисно-відновна реакція.* Завершальна реакція циклу, у якій яблучна кислота окиснюється НАД⁺ до щавелево-оцтової кислоти з утворенням відновленого НАД•Н₂. Каталізує реакцію малатдегідрогеназа. Утворена в реакції щавелевооцтова кислота, перейшовши в енольну форму, регенерує у первинний акцептор ацетильної групи у циклі Кребса, може знову реагувати з ацетил-КоА, тобто розпочинати новий оберт циклу (рис. 2.20.).

Енергетичний баланс циклу Кребса. Отже, у реакціях циклу Кребса утворюється три типи енергетичних речовин: НАД•Н₂ (4 молекули – 1, 2, 4 ОВР і зв'язна реакція між гліколізом і циклом Кребса), ФАД•Н₂ (1 молекула у 3 ОВР) і АТФ (1 молекула під час субстратного фосфорилування). Відновлені коферменти (НАД•Н₂ і ФАД•Н₂) далі поступають у третій етап дихання (дихальний електрон-транспортний ланцюг), де окиснюються з утворенням АТФ – НАД•Н₂ трьох молекул, а ФАД•Н₂ – двох молекул. Тому можна вважати, що енергетичний вихід циклу Кребса становить:

$$\begin{aligned}
 \text{НАД}\cdot\text{Н}_2 &= 4 \times 3 = 12 \text{ АТФ} ; \\
 \text{ФАД}\cdot\text{Н}_2 &= 1 \times 2 = 2 \text{ АТФ} ; \\
 \text{АТФ} &= 12 + 2 + 1 = 15
 \end{aligned}$$

Оскільки вихідна молекула глюкози у процесі гліколізу розпадається на 2 молекули пірувату, то внаслідок окиснення цих двох залишків утвориться 30 молекул АТФ.

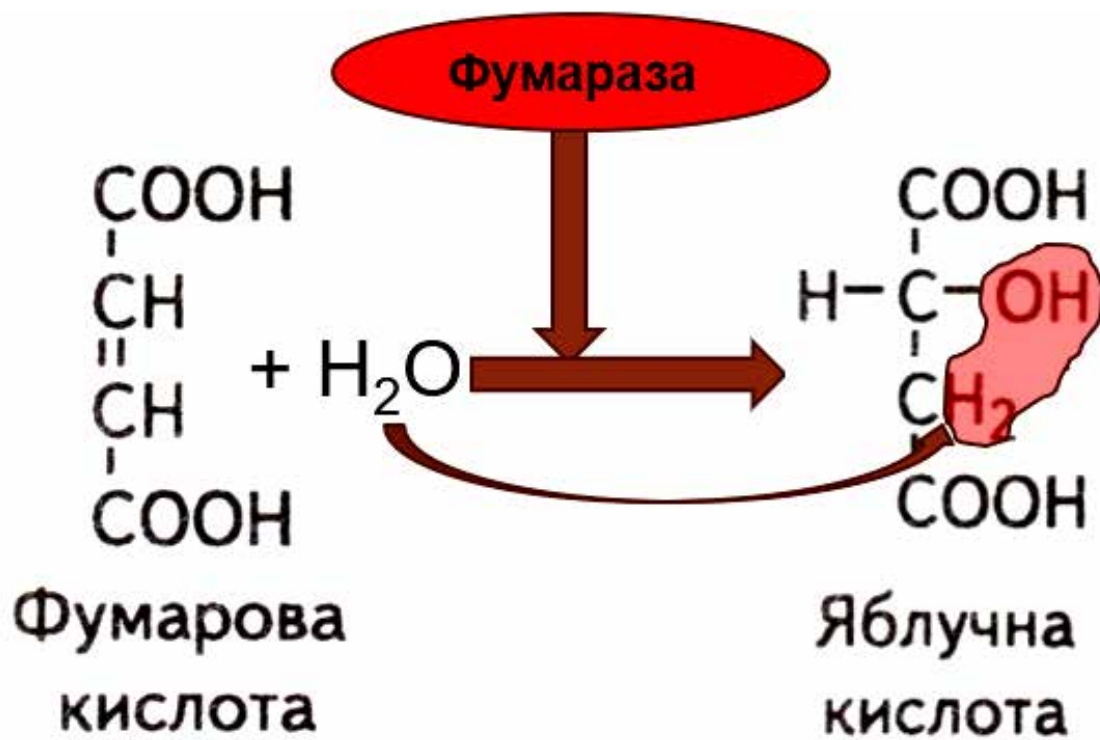


Рис. 2.19. Гідратація фумарової кислоти з утворенням малату

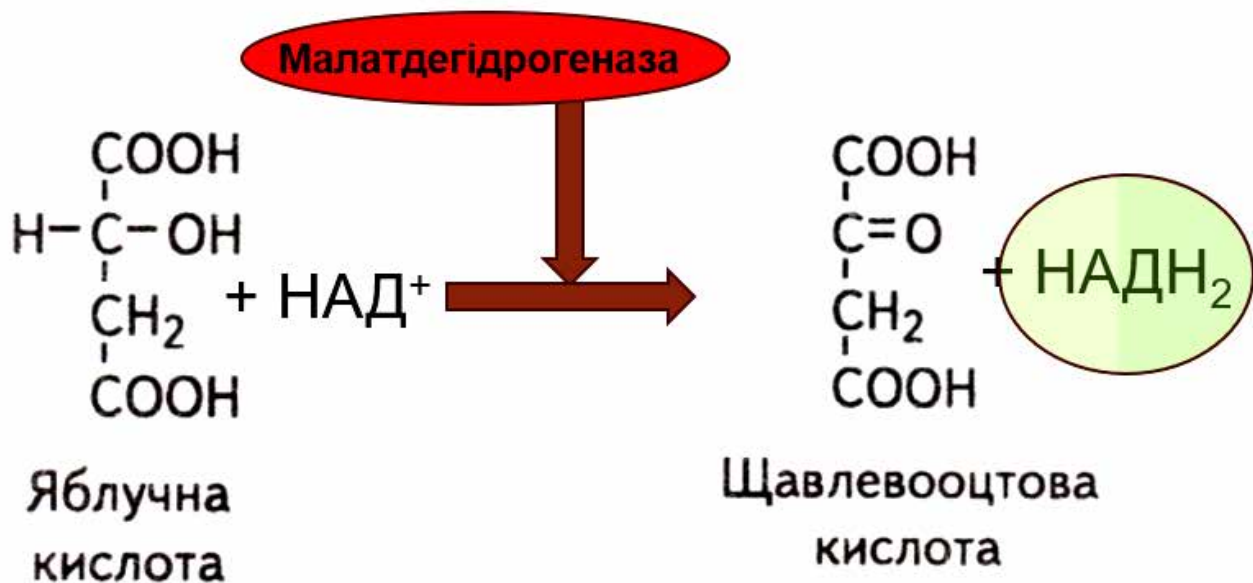


Рис. 2.20. Четверта окисно-відновна реакція циклу Кребса

Цикл Кребса відіграє дуже важливу роль в обміні речовин рослинного організму. Він є кінцевим етапом розпаду не лише вуглеводів, але й білків, жирів та інших сполук. Під час реакцій циклу виділяється основна кількість енергії, яка міститься у субстраті, і більша її частина пізніше акумулюється у високоенергетичних фосфатних зв'язках.

Отже, унаслідок окислення глюкози в процесі дихання шляхом гліколізу та циклу Кребса (основний шлях дихання) утворюється 38 молекул АТФ (30 у циклі Кребса і 8 у гліколізі), що складає 380 ккал/моль. Інколи у диханні

виділяють безкисневий і кисневий етапи, що відповідають анаеробному й аеробному утворенню АТФ – безкисневим шляхом утворюються «чисті» молекули АТФ безпосередньо, тобто без опосередкованих окисно-відновних реакцій, у випадку основного шляху дихання за допомогою субстратного фосфорилування. Енергетичний вихід безкисневого етапу складає 4 молекули АТФ на молекулу глюкози (дві у гліколізі і дві у двох циклах Кребса, що забезпечують деградацію двох молекул пірувіноградної кислоти). Кисневий етап передбачає окиснення відновлених коферментів НАД•Н₂ і ФАД•Н₂, що утворюються в окисно-відновних реакціях гліколізу і циклу Кребса (8 молекул НАД•Н₂ і 2 ФАД•Н₂ у двох циклах Кребса та 2 НАД•Н₂ у гліколізі), що становить разом 34 молекули АТФ. Проте, кисневе окиснення відновлених коферментів відбувається на третьому етапі дихання, за умови функціонування електрон-транспортних ланцюгів, тому до моменту протікання цього етапу енергетичний баланс двох попередніх циклів виражають «енергетичним еквівалентом», враховуючи відразу «чисті» й «потенційні» (у формі відновлених коферментів) молекули АТФ.

Значення циклу Кребса не вичерпується енергетичним забезпеченням метаболізму. Багато проміжних продуктів циклу використовується для синтезу різноманітних сполук (амінокислот, жирів, вуглеводів, поліізопренів і т. д.).

2.2.3. Дихальний електрон-транспортний ланцюг

Дихальний електрон-транспортний ланцюг (ДЕТЛ) – це мітохондріальна система окисно-відновних реакцій, у якій водень, що був відщеплений від субстратів дихання й перенесений відновленими коферментами НАДФ•Н₂ і ФАД•Н₂ на ферментні системи, що локалізовані на кристах мітохондрій, транспортується по компонентах цього ланцюга й в останній реакції акцептується киснем, що відновлюється до молекули води. Протікає цей процес, відповідно на інвагінаціях внутрішньої мембрани мітохондрій (кристах), за обов'язкової наявності кисню, що безпосередньо вступає лише в останню реакцію цього електрон-транспортного ланцюга.

Як відомо, анаеробним у диханні є лише перший етап його основного шляху, тобто гліколіз, що може передувати як диханню, так і багатьом шляхам бродіння, проте енергетика гліколізу у цьому випадку буде іншою. Це пов'язано з тим, що основна частина АТФ гліколізу (6 молекул) утворюється не безпосередньо в його реакціях, а уже на третьому етапі основного шляху дихання унаслідок окиснення відновлених у гліколізі двох молекул НАДФ•Н₂, що є можливим виключно під час дихання. У реакціях бродіння ці коферменти окиснюються іншими субстратами без утворення АТФ, тому енергетичний баланс гліколізу, що передує бродінню складатиме виключно чистий вихід АТФ у його реакціях – всього дві молекули.

Усі інші перетворення як основного (цикл Кребса, ДЕТЛ), так і альтернативних шляхів окиснення субстратів (пентозофосфатний шлях та цикл гліоксилової кислоти) функціонують лише за умов наявності достатньої кількості кисню, хоча сам кисень безпосередньої участі в їхніх реакціях не бере. Кисень необхідний для кінцевого етапу дихання, пов'язаного з окисненням

відновлених коферментів НАДФ•Н₂ і ФАД•Н₂ на дихальному електрон-транспортному ланцюгу, з транспортуванням водню та електрона по якому спряжений також синтез АТФ (окисне фосфорилування).

Усі реакції дихального електрон-транспортного ланцюга є окисно-відновними. Як відомо, окисно-відновний процес спряжений з одночасним окисненням одного субстрату й відновленням іншого.

Окиснення – це хімічний процес, під час якого речовина або субстрат віддає електрони, збільшуючи свій ступінь окиснення.

Відновлення – це хімічний процес, під час якого речовина або субстрат приймає електрони, збільшуючи свій ступінь відновлення.

У процесі окисно-відновної реакції одна сполука *окиснюється* й виступає донором електронів, тобто відновником, котрий віддає електрони і відновлює іншу сполуку (свого опонента), інша сполука є акцептором електронів, тобто їх приєднує і *відновлюється*, але стосовно свого опонента є окисником, оскільки окиснює його, забираючи його електрони.

Речовина А виступає відновником – донором електронів (віддає електрони):



Речовина В виступає окисником – акцептором електронів (приймає електрони):



Вступати в окисно-відновні реакції можуть не будь-які дві сполуки, а лише ті, що володіють відповідними *окисно-відновними потенціалами*.

Окисно-відновлювальний потенціал – це міра окиснювальної або відновлювальної здатності речовини (чи середовища), що виражає здатність речовини (або середовища) приєднувати чи віддавати електрони під час окисно-відновних реакцій. Вимірюється окисно-відновний потенціал у мілівольтах (10⁻³ В)

За 0 потенціалу (E₀) прийнято вважати потенціал реакції:



Чим від'ємніша величина потенціалу, тим більша здатність речовини віддавати електрони (окиснюватися), тобто бути відновником. Навпаки, чим позитивніший потенціал певної речовини, тим більша її здатність приймати електрони (відновлюватися), тобто бути окиснювачем.

Окисно-відновний потенціал сполуки залежить від кількості і заряду електронів у ній, адже позитивний заряд ядра є сталим і незмінним, оскільки протони і нейтрони у ньому утримуються силами сильної ядерної взаємодії і їхня кількість у ядрі за звичайних умов не змінюється. Заряди та кількість

електронів у хмарі атома може мінятися, що й визначатиме загальний заряд субстрату, тобто міру його окисно-відновного потенціалу.

Універсальним окиснювачем є кисень, який має максимальний позитивний потенціал ($E_h=+0,817\text{ В}$), а функцію донорів електронів виконують різні органічні речовини. Усі електрони транспортуються до O_2 через багатокомпонентну окисно-відновну систему (електрон-транспортний ланцюг).

Отже, дихальний електрон-транспортний ланцюг локалізований на внутрішній мембрані мітохондрій і слугує для передачі електронів від відновлених субстратів на кисень, що супроводжується трансмембранним перенесенням іонів H^+ . Загалом, ДЕТЛ у мітохондріях, як і транспортний ланцюг фотосистем у тилакоїдах гран, виконує функцію окисно-відновної помпи. Назагал, ДЕТЛ – це полімолекулярний (здебільшого білковий) комплекс розташованих одна біля одної речовин, закріплених на мембрані крист мітохондрій. Компоненти ДЕТЛ розміщуються в певній послідовності – у напрямку збільшення позитивного окисно-відновлювального потенціалу й за умови зміни цього потенціалу якогось з учасників – запускається ланцюг поступових окисно-відновних реакцій, що прямує в бік зростання позитивного його значення (рис. 2.21.).

Пара електронів і водень від відновленої молекули НАДФ• H_2 або сукцинату (через відновлений кофермент ФАД• H_2), передається по електрон-транспортному ланцюгу на молекулярний кисень, який, відновлюючись, утворює молекулу води. Згідно сучасних уявлень, до ДЕТЛ належать чотири мультиферментні комплекси і два невеликі за молекулярною масою компоненти – убихінон Q і цитохром c.

- I. Комплекс I – здійснює перенесення електронів від НАДН до убихінону Q. До його складу входить *флавінова (Флавіномононуклеотид(ФМН)-залежна) НАДН-убихінон редуктаза*.
- II. Комплекс II – каталізує окиснення сукцинату убихіноном. До його складу належить *флавінова (Флавінаденіндинуклеотид(ФАД)-залежна) сукцинат-убихіноноксидоредуктаза*.
- III. Комплекс III – переносить електрони від відновленого убихінону до цитохрому c. До його складу входить *убихінон-цитохром c оксидоредуктаза*.
- IV. Комплекс IV – переносить електрон від цитохрому c до кисню. До його складу входить *цитохром c-кисеньоксидоредуктаза (цитохромоксидаза)*.

Комплекси I, III і IV перфорують обидва моношари фосфоліпідного каркасу мембрани крист. На внутрішній стороні мембрани, яка контактує з матриксом мітохондрії, два електрони і два катіони H^+ переносяться від НАДФ• H_2 на флавінмононуклеотид комплексу I. НАДФ• H_2 окиснюється до НАДФ $^+$, а його електрони транспортуються через FeS-центрина убихінон Q, котрий разом із електронами приєднує також два катіони H^+ і дифундує до комплексу III, приймаючи паралельно ще два електрони і катіони. У третьому мультиферментному комплексі, відновлений убихінон Q окиснюється, передаючи два електрони цитохрому b_{556} і ще два – на залізо-сірчаний білок ферредоксин.

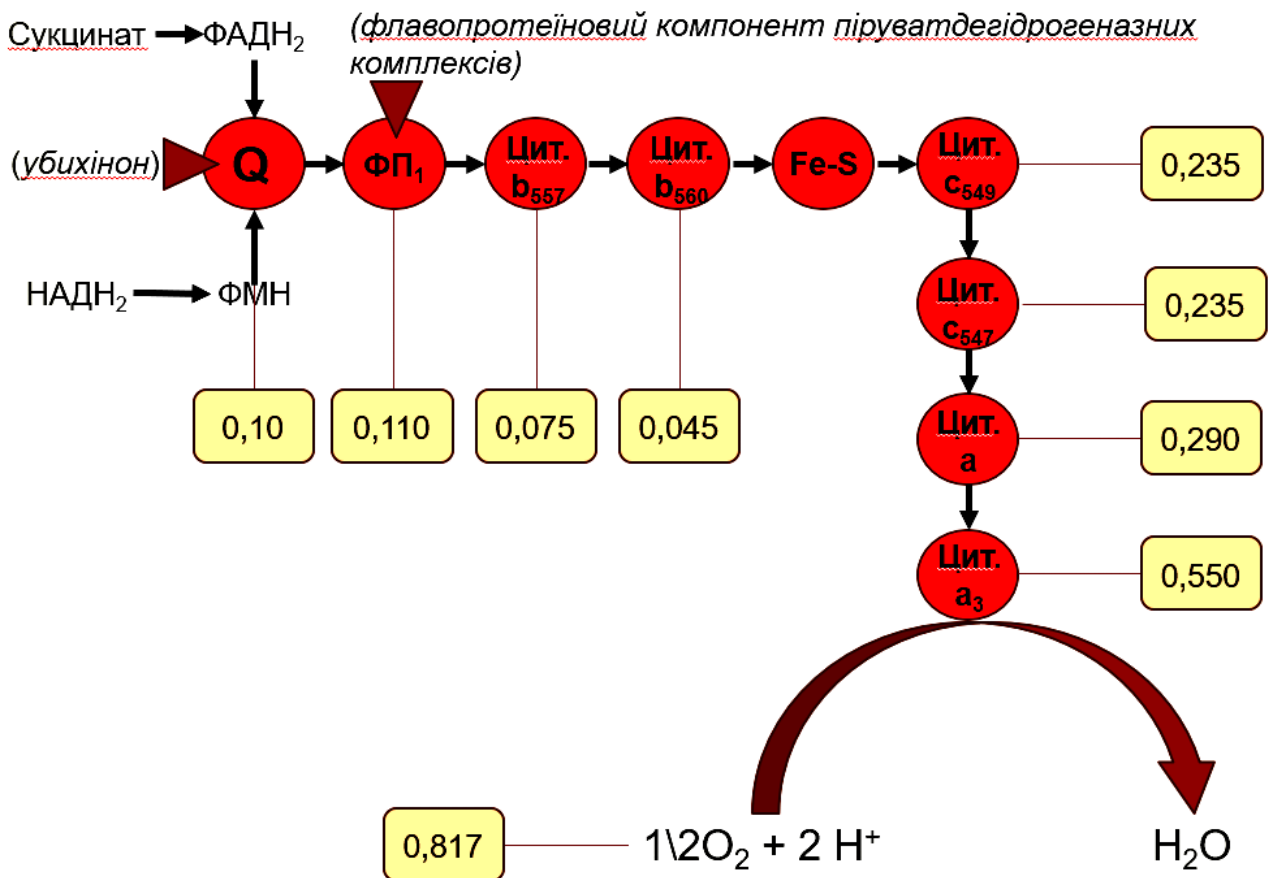


Рис. 2.21. Послідовність розташування компонентів дихального електрон-транспортного ланцюга на мембранах крист мітохондрій (у квадратних полях вказано значення окисно-відновного потенціалу учасників ДЕТЛ)

Окиснені молекули убихінону Q знову дифундують до комплексу I і готові приймати від нього (або від комплексу II) електрони та катіони H⁺.

Водорозчинні цитохроми c, що виходять на зовнішній бік мембрани, отримавши два електрони від ферредоксину, передають їх на цитохром a комплексу IV. Далі цитохром a окиснюється відновлюючи цитохром a₃, котрий, зв'язуючи кисень, передає йому отримані два електрони й за участю двох катіонів H⁺ кисень відновлюється до молекули води.

Окрім того, не усі учасники реакцій дихального електрон-транспортного ланцюга є одночасно переносниками електронів та катіонів. Безумовно, усі вони транспортують електрони (флавопротеїн та убихінон Q – переносять одночасно по два електрони, а цитохроми – лише по одному), проте тільки флавопротеїн та убихінон Q транспортують також і катіони, а ферредоксин і цитохроми – є переносниками тільки електронів. Таким чином, катіони H⁺, під час транспорту від убихінону Q, через флавопротеїн на цитохром b, виходять у міжмембранний перихондріальний простір, а потім, під час синтезу молекули води, залучаються звідти комплексом IV в останню реакцію (рис. 2.22.).

Передача двох електронів від сукцинату (третя ОВР циклу Кребса) на убихінон Q через відновлений кофермент ФАД•Н₂ у комплексі II не супроводжується трансмембранним транспортом катіонів, а отже не спряжене із синтезом АТФ. Тому під час окиснення НАДФ•Н₂ до НАДФ⁺ на дихальних

електрон-транспортних ланцюгах, що забезпечують мультиферментні комплекси I, III і IV синтезується 3 молекули АТФ, а під час окиснення $\text{ФАД}\cdot\text{H}_2$ до ФАД^+ , що протікає за участі мультиферментних комплексів II, III і IV синтезується лише 2 молекули АТФ.

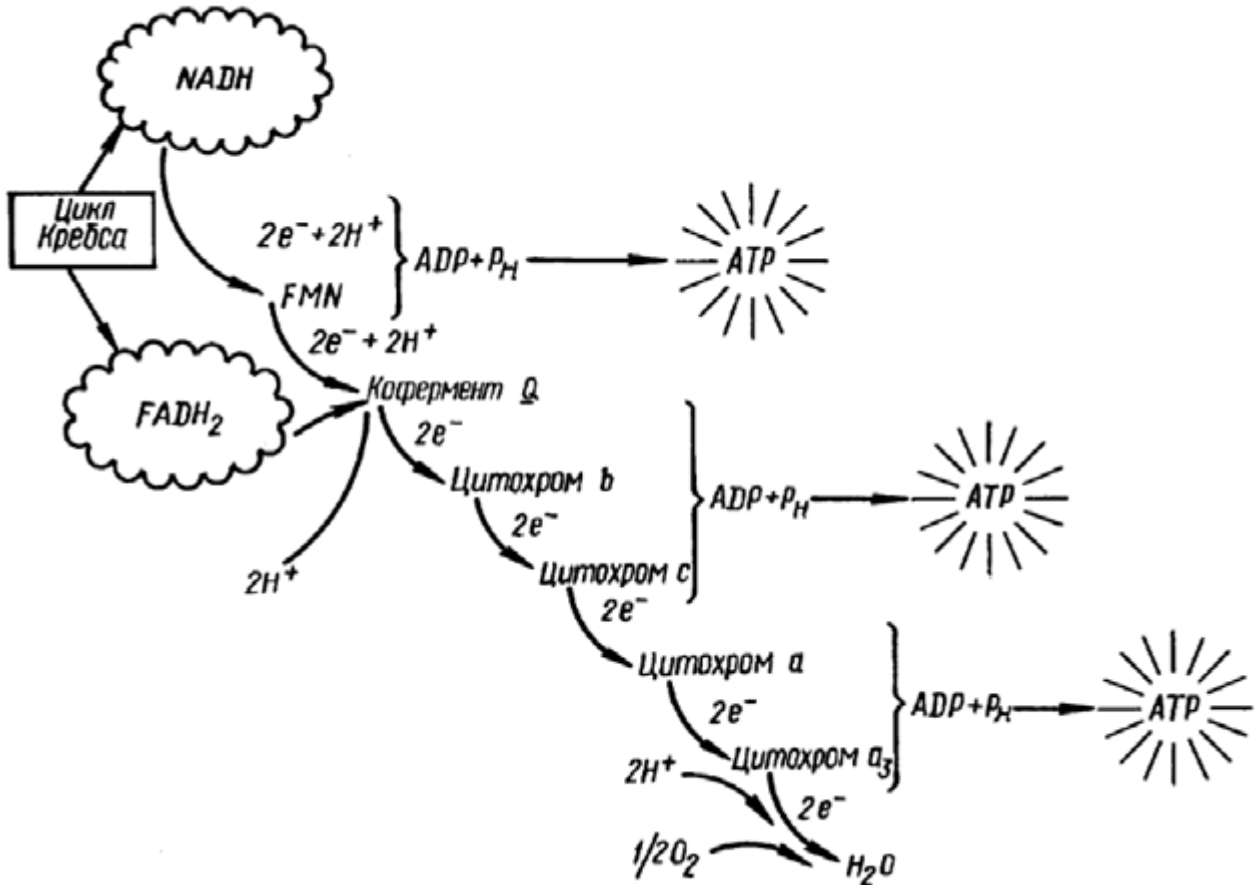


Рис. 2.22. Передача енергії по дихальному електро-транспортному ланцюгу й місця синтезу АТФ (за М. Мусієнко, 2005)

Отже, на завершальному етапі основного шляху дихання не відбувається утворення нових енергетичних продуктів, а лише перехід акцептованої від субстратів енергії відновленими коферментами у безпечну й найбільш пластичну форму – фосфатні зв'язки АТФ. Енергетичний еквівалент основного шляху дихання можна вивести уже після закінчення циклу Кребса, він становить 38 молекул АТФ (8 утворюється у гліколізі й 30 у циклі Кребса). Проте слід пам'ятати, що до протікання реакцій третього етапу дихання, у середовищі утворюється тільки 4 молекули АТФ (2 у гліколізі й 2 у реакції субстратного фосфорилування циклу Кребса), всі інші поки будуть лише еквівалентними й перебувають у формі відновлених коферментів – 10 $\text{НАДФ}\cdot\text{H}_2$ (2 гліколітичні, 2 у зв'язній реакції й 8 у циклі Кребса) та 2 $\text{ФАД}\cdot\text{H}_2$, що синтезуються у третій ОВР циклу Кребса. Тому головним завданням дихального електро-транспортного ланцюга є трансформація хімічної енергії з відновлених коферментів у АТФ.

Тема 2.3. Альтернативні шляхи окиснення субстратів дихання

Найпоширенішим субстратом для реакцій дихання у рослин є глюкоза, джерелом котрої найчастіше виступає крохмаль, що деполімеризується, розпадаючись на мономерні – власне молекули глюкози. Глюкоза, утворившись під час фотосинтезу у хлоропластах, олігомеризується до сахарози, транспортується в інші компартменти і далі може використовуватися у пластичних процесах, стаючи «будівельними» компонентами структурних полісахаридів, вступати в інші перетворення, слугуючи субстратом для синтезу різноманітних сполук у клітині, полімеризуватися до крохмалю й відкладатися у формі запасних поживних речовин, або ж «спалюватися» в мітохондріях і перетворюватися на джерело енергії АТФ. Проте, не лише глюкоза може слугувати субстратом для дихання, а й інші поживні речовини, такі як жири та білки у рослин, хоча й набагато рідше, але все ж вступають у реакції дихальних метаболічних шляхів.

Вище ми розглянули основний шлях яким відбувається аеробний катаболізм глюкози, але це не єдиний метаболічний шлях її розпаду. Існують кілька альтернативних шляхів деградації глюкози, а також специфічні цикли окиснення інших субстратів дихання.

2.3.1. Пентозофосфатний шлях

Пентозофосфатний шлях, або фосфоглюконатний шлях чи гексозомонофосфатний шунт (шунтом називають метаболічний шлях, що є відгалуженням від основного шляху окиснення вуглеводів) – це процес метаболічного окиснення глюкози, альтернативний процесу гліколіз – цикл Кребса, в результаті якого відбувається відновлення коферментів НАДФ•Н₂, котрі залучаються до біосинтезу холестерину та жирних кислот, а також рибозо-5-фосфату – важливого попередника під час синтезу нуклеотидів. Протікає у гіалоплазмі цитоплазми, делокалізовано.

Протікає у дві фази (стадії):

1. **Оксинювальна.** Під час цієї фази відбуваються окисно-відновні реакції, а вхідна сполука – глюкозо-6-фосфат – у ній декарбоксілюється до рибозо-5-фосфату та передає водень на НАДФ•Н₂. Утворена пентоза вступає в реакцію ізомеризації і трансформується на рибозо-5-фосфат.

2. **Неоксинювальна.** Під час цієї фази не протікає окисно-відновних процесів, а пентоза перетворюється на проміжні продукти.

Вхідною молекулою у пентозофосфатний шлях є глюкозо-6-фосфат, котрий далі перетворюється у 6-фосфоглюконат. Відбувається це перетворення у дві реакції. Спершу глюкозо-6-фосфат окиснюється коферментом НАД⁺, що є лабільним компонентом складного ензиму глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Продуктом цього перетворення є проміжна сполука до 6-фосфоглюконо-δ-лактон. Електрони і катіони Н⁺ у цій реакції акцептує нікотинаміддинуклеотидфосфат, що відновлюється до НАДФ•Н₂. У наступній реакції 6-фосфоглюконо-δ-лактон реагує з водою й гідратується у 6-фосфоглюконат. Це перетворення забезпечує 6-фосфоглюконолактоназа (рис. 2.23.).

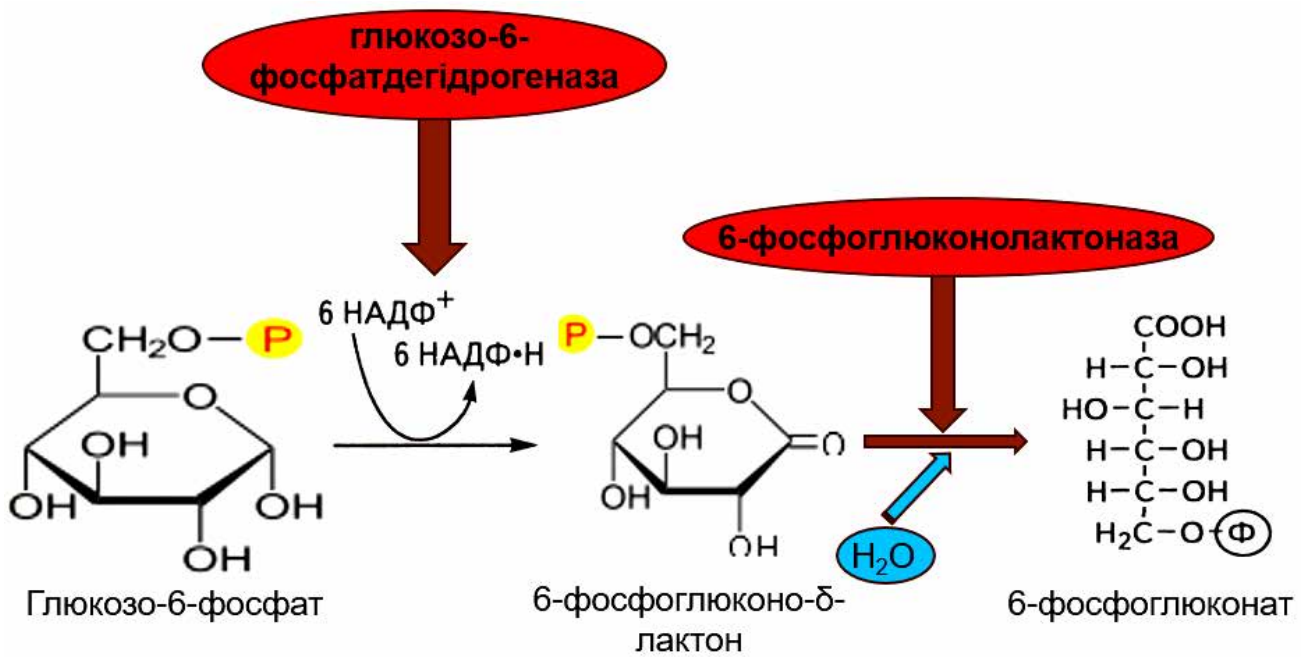


Рис. 2.23. Перша реакція пентозофосфатного циклу

6-фосфоглюконат у наступній реакції, знову окиснюється молекулою НАДФ⁺ з одночасним декарбосилуванням (реакція окисного декарбосилування).

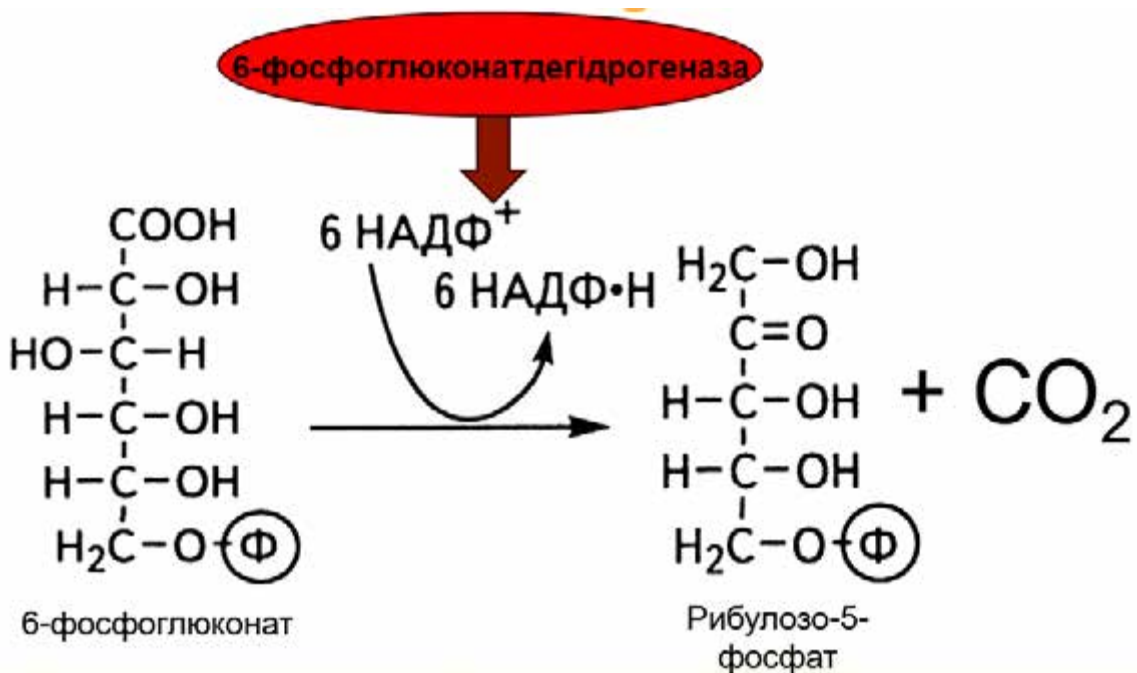


Рис. 2.24. Реакція окисного декарбосилування 6-фосфоглюконату з утворенням неорганічного CO₂ і пентози

Каталізує реакцію 6-фосфоглюконатдегідрогеназа. Продукти – молекулярний CO₂, відновлений НАДФ•Н₂ та п'ятикарбоновий рибулозо-5-фосфат (рис. 2.24.).

Завершує першу фазу гексозомонофосфатного шунта ізомеризація першої форми пентози, а саме рибулозо-5-фосфату, у стереоізомер – рибозо-5-фосфат. Каталізатором реакції виступає рибулозо-5-фосфатізомераза (рис. 2.25.).

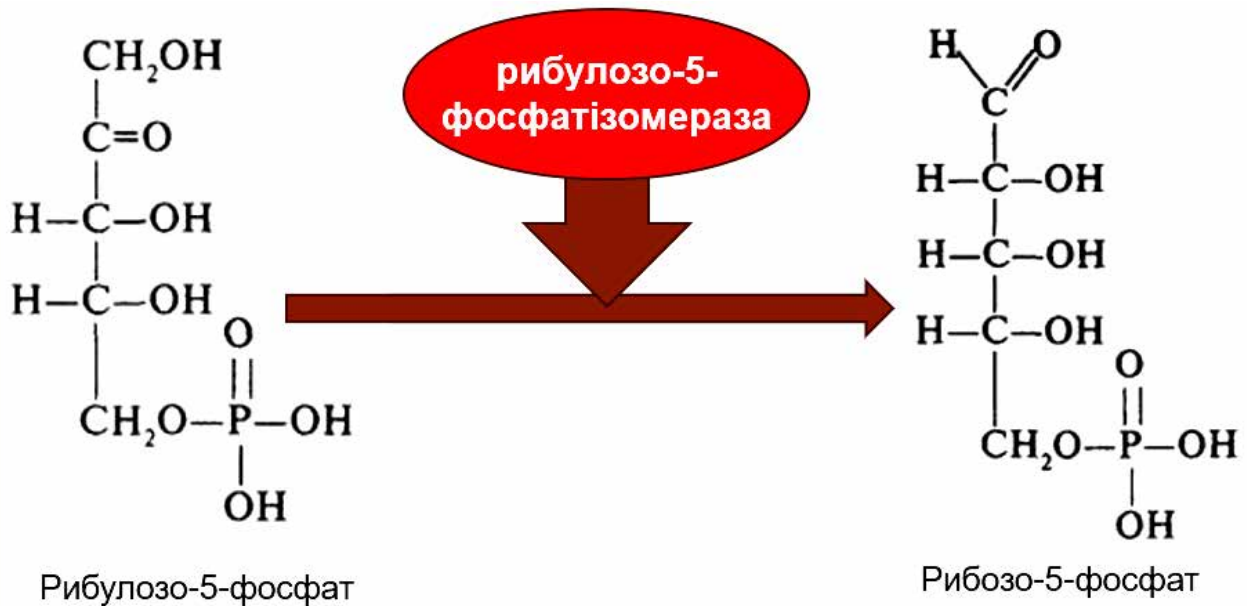


Рис. 2.25. Перша з реакцій взаємоперетворення пентоз

Друга неокиснювальна фаза гексозомонофосфатного шунта розпочинається епімеризацією рибулозо-5-фосфату до ксилулозо-5-фосфату, що полягає у стереоскопічному переміщенні груп Н та ОН по третьому карбоні скелету молекули. Каталізує це перетворення рибулозо-5-фосфатепімераза (рис. 2.26.).

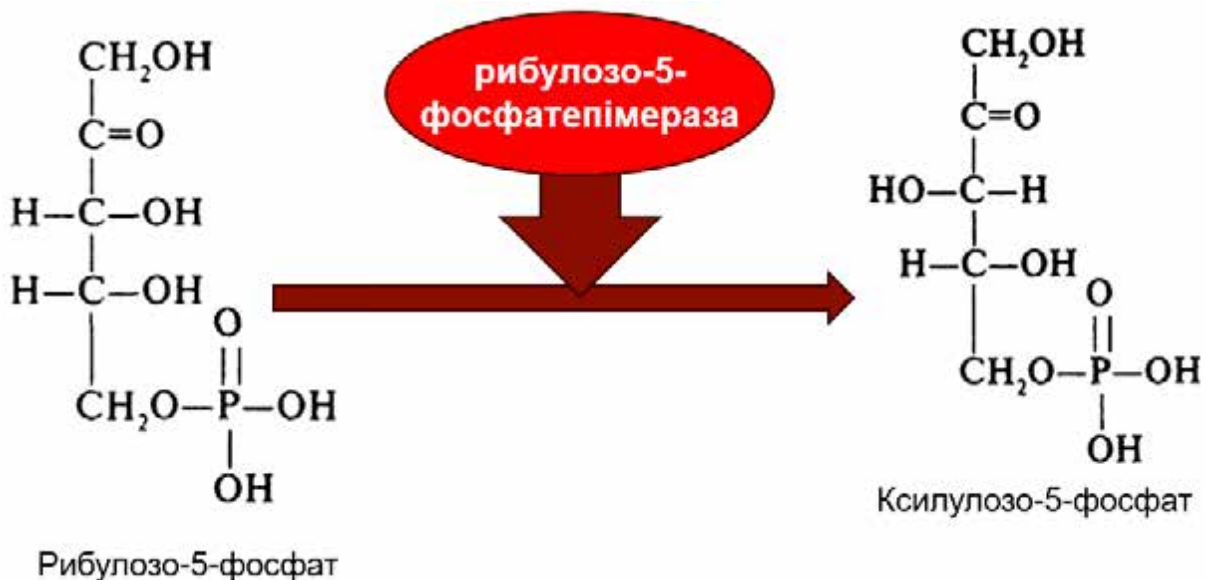


Рис. 2.26. Епімеризація рибулозо-5-фосфату

У наступній реакції ксилулозо-5-фосфат реагує з іншою молекулою пентози – утвореною внаслідок ізомеризації молекулою рибозо-5-фосфату.

Унаслідок переміщення двокарбонної частини ксилулозо-5-фосфату на молекулу рибозо-5-фосфату, утворюються седогептулозо-7-фосфат й 3-фосфогліцериновий альдегід. Каталізатором реакції виступає транскетолаза (рис. 2.27.).

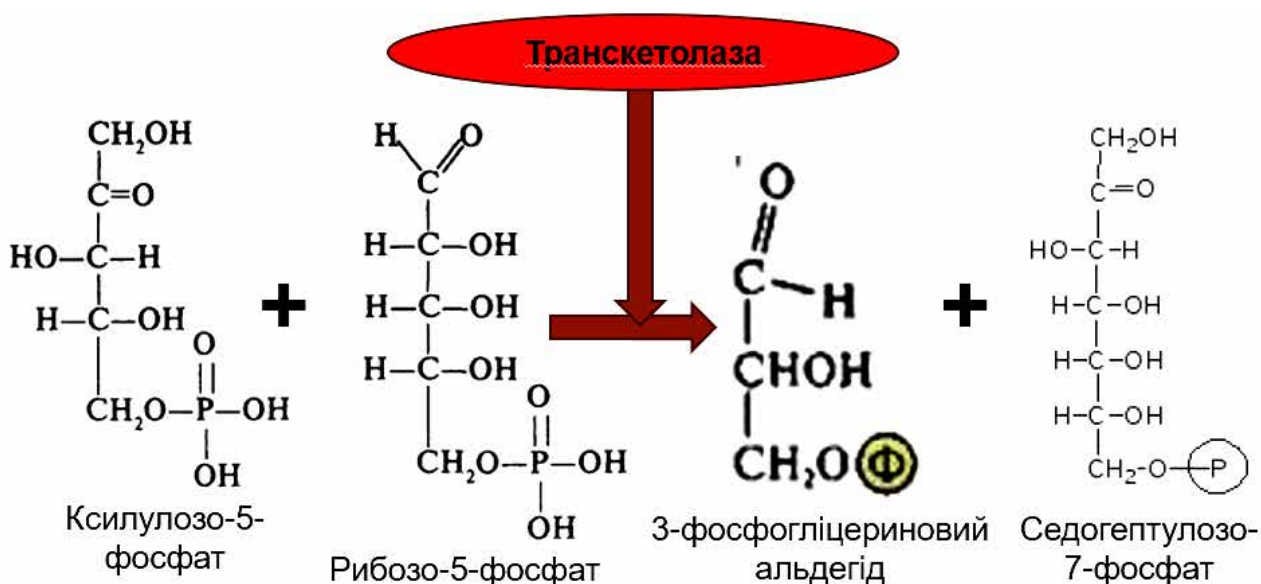


Рис. 2.27. Реакція трансферації двокарбонного фрагменту між пентозами

Далі утворений седогептулозо-7-фосфат вступає в реакцію з утвореним із ним же 3-фосфогліцериновим альдегідом. Унаслідок перенесення трансальдолазою трикарбонного фрагменту на 3-фосфогліцериновий альдегід від седогептулозо-7-фосфату, утворюються такі сполуки – шестикарбонний фруктозо-6-фосат і чотирикарбонний еритрозо-4-фосфат (рис. 2.28.).

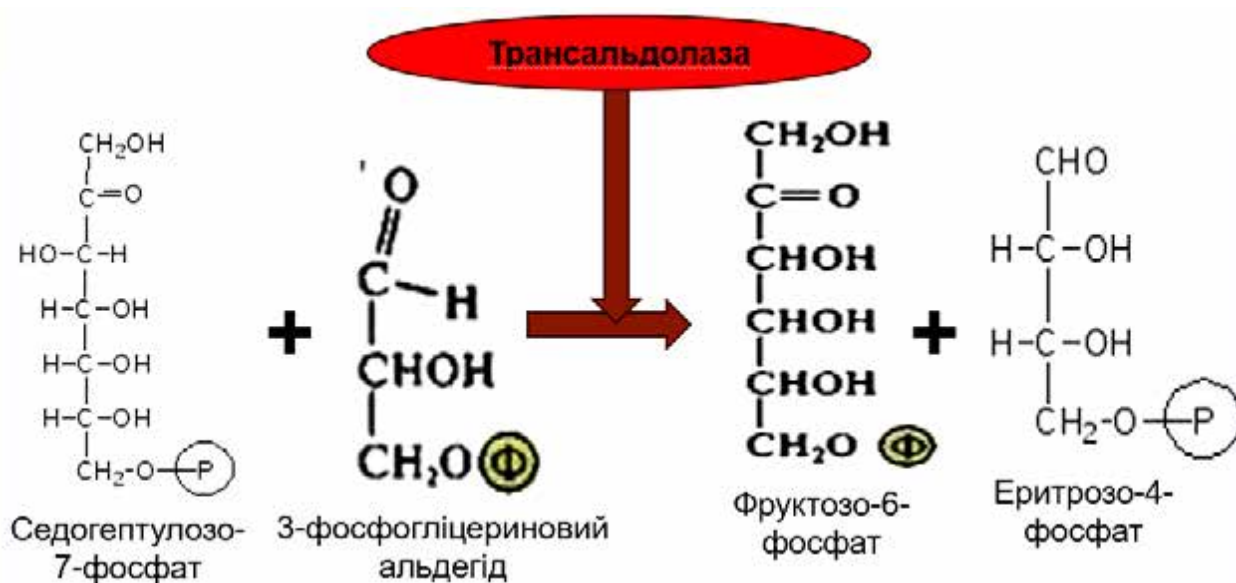


Рис. 2.28. Регенерація першої молекули гексози

У наступній реакції чотирикарбонний еритрозо-4-фосфат вступає у перетворення з пентозою – ксилулозо-5-фосфатом. Ферментом реакції є

транскетолаза, котра транспортує двокарбоний шматок із пентози на тетрозу з утворенням другої молекули гексози (фруктозо-6-фосфату) і тріози (3-фосфогліцеринового альдегіду) (рис. 2.29.).

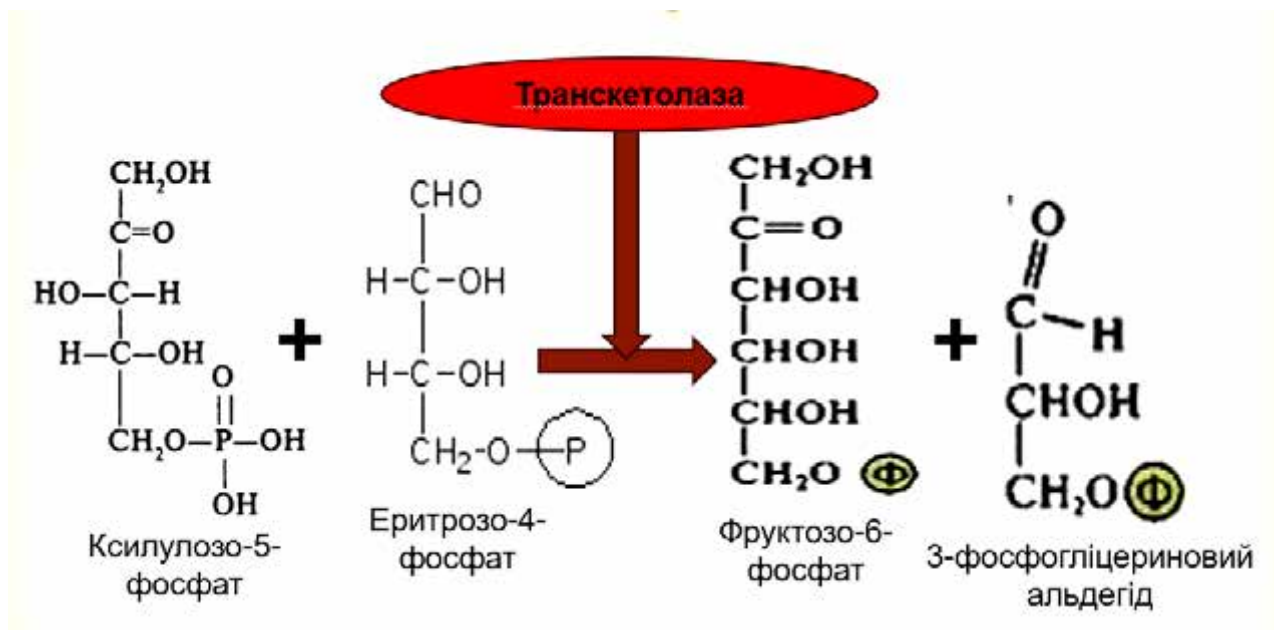


Рис. 2.29. Регенерація другої молекули гексози

Дві молекули фруктозо-6-фосфату – це ізомери глюкозо-6-фосфату і можуть вільно ізомеризуватися до вихідної молекули циклу за допомогою ферменту фосфогексоізомерази. Таким чином відбувається регенерація вхідної у цикл молекули і його реакції можуть розпочатися знову (рис. 2.30.).

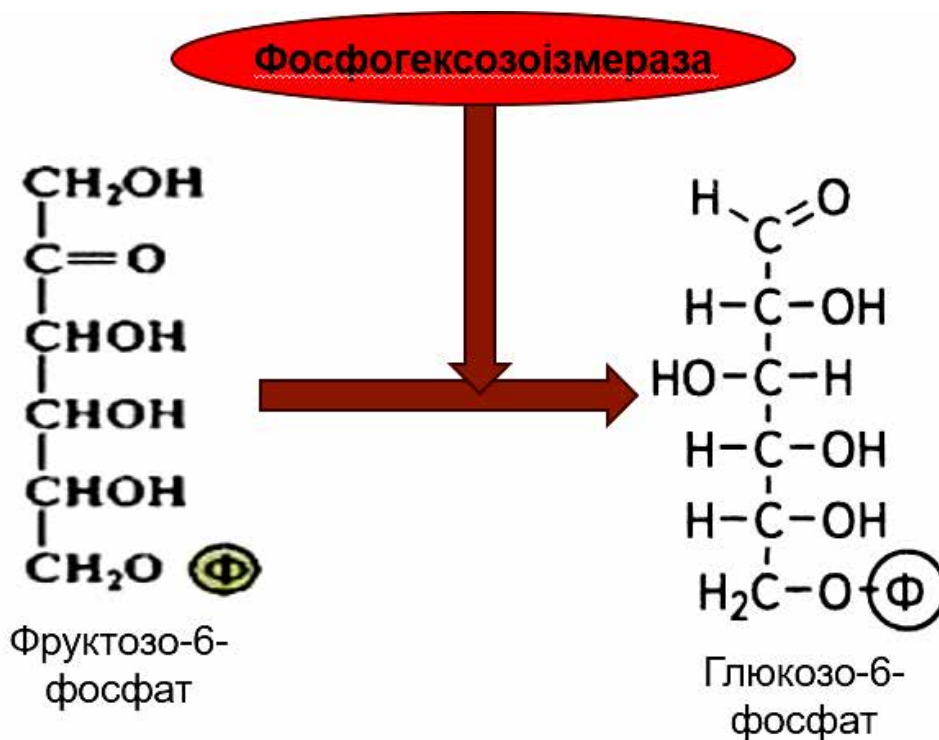


Рис. 2.30. Ізомеризація фосфогексоз

3-фосфогліцеринний альдегід також може використовуватись на відновлення глюкозо-6-фосфату. Для цього одна з утворених молекул 3-фосфогліцеринного альдегіду, під впливом ферменту тріозофосфатізомерази, ізомеризується до дигідроацетонфосфату. Утворені ізомери тріоз конденсуються одна з одною і під впливом альдолази утворюють шестивуглицевий фруктозо-1,5-дифосфат, який під впливом фруктозо-1,5-дифосфатази дефосфорилується з утворенням фруктозо-6-фосфату і фосфору неорганічного (рис. 2.31.).

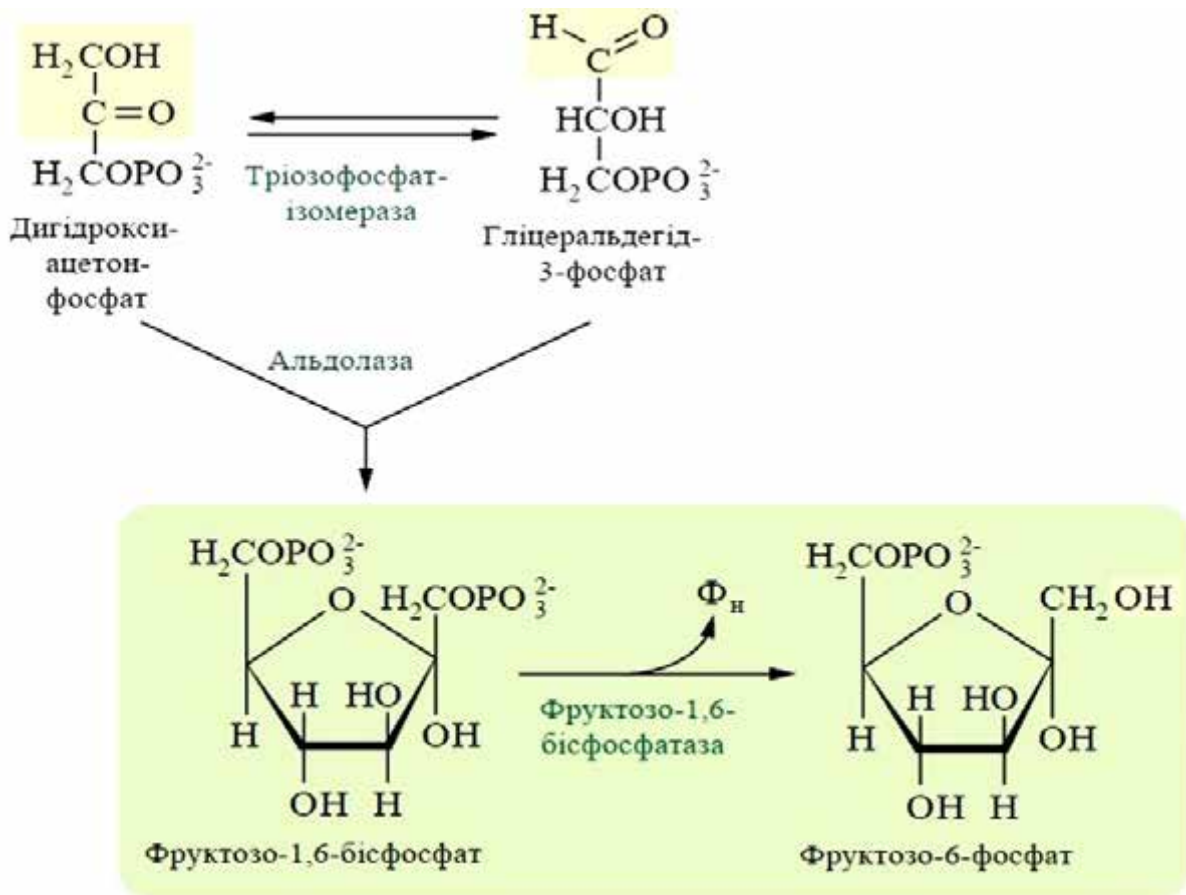


Рис. 2.31. Метаболізм залишкових фосфотріоз, що призводить до регенерації третьої молекули глюкозо-6-фосфату

<http://surl.li/sddyc>

Отже, унаслідок одного оберту пентозофосфатного шляху декарбоксилюється один органічно зв'язаний карбон молекули глюкози і відновлюються дві молекули $\text{НАДФ}\cdot\text{H}_2$. Тому для повної мінералізації цілої молекули глюкози необхідно шість обертів пентозофосфатного шляху, що нагадує фотосинтетичний «цикл Кальвіна – навпаки». Логіка повної деструкції глюкози полягає в одночасному вступанні в пентозофосфатні перетворення шести молекул глюкози, котрі, після усіх реакцій, регенерують лише у п'ять. Два паралельних шляхи призводять до утворення двох молекул рибулозо-5-фосфату, одна з яких ізомеризується до рибозо-5-фосфату, а інша – до ксилулозо-5-фосфату. Далі ці пентози, що є продуктами паралельних пентозофосфатних шляхів, реагують одна з одною з утворенням тріози і гептози

(рис. 2.27.), що у наступній реакції перетворюються у фруктозо-6-фосфат і еритрозо-4-фосфат (рис. 2.28.). Фруктозо-6-фосфат іде на регенерацію першої молекули глюкозо-6-фосфату, а еритрозо-4-фосфат реагує з пентозою (у формі ксилулозо-5-фосфату), котра утворюється у третьому паралельному циклі (рис. 2.29.). Продуктом цієї реакції є ще одна молекула гексози, що далі регенерує у другу молекулу глюкозо-6-фосфату, та трикарбоний 3-фосфогліцериний альдегід. Отже, продуктами цих трьох паралельних шляхів наразі є дві молекули глюкозо-6-фосфату і одна 3-фосфогліцериний альдегід.

З цими описаними вище трьома паралельними пентозофосфатними шляхами, протікають ще три аналогічні, продуктами котрих є відповідно ще дві молекули глюкозо-6-фосфату і одна 3-фосфогліцериний альдегід, тобто на виході шести паралельних циклів тут утворюються 4 регеновані молекули гексоз і дві тріози. Далі утворені тріози конденсуються після ізомеризації у ще одну гексозу – власне, п'яту молекулу глюкозо-6-фосфату (рис. 2.31.).

Енергетичний вихід пентозофосфатного шляху, за умови, якщо одна молекула глюкозо-6-фосфату за 6 циклів повністю перетворюється у вуглекислий газ, що супроводжуватиметься синтезом 12 молекул відновленого НАДФ, становитиме еквівалентно 36 АТФ, тобто він є на 2 АТФ біднішим у порівнянні з основним шляхом дихання, де утворюється 38 АТФ. Слід зазначити, що енергетично пентозофосфатний шлях є альтернативним лише до гліколізу й циклу Кребса, а третій етап дихання, після протікання його реакцій, необхідний для перетворення відновлених коферментів в АТФ, оскільки чистого АТФ, на відміну від основного шляху дихання, до протікання реакцій електрон-транспортного ланцюга, тут не утворюється взагалі.

Проте основна роль пентозофосфатного шляху не енергетична і закінчується він «спалюванням» продуктів на кристах мітохондрій до АТФ дуже зрідка. Частіше цей шлях стає джерелом проміжних продуктів для інших метаболічних процесів – перш за все, він є джерелом пентоз, що необхідні для синтезу нуклеїнових кислот, а також відновлених коферментів НАДФ•Н₂, котрі використовуються у процесах біосинтезу жирних кислот, холестерину тощо.

2.3.2. β-окиснення жирних кислот

Хоча основною формою запасних поживних речовин і одночасно субстратом для процесів дихання у рослин є вуглеводи, в окремих випадках запасатися можуть у них також і жири та білки. Це особливо притаманно насінню рослин, де часто відкладаються прозапас ліпіди (накопичуються в олеопластах олійних культур) або білки (відкладаються в протеїнопластах бобових). Під час проростання насіння, що у формі запасних поживних речовин має неуглеводневі речовини, спряжене з перетворенням цих речовин особливими метаболічними шляхами.

Окиснення жирів протікає під час проростання насіння олійних культур. Цей процес розпочинається гідролізом ліпідів у сферосомах (олеосомах чи олеопластах) до мономерів – гліцерину та жирних кислот. Продукти деполімеризації ліпідів переносяться до мітохондрій, у яких гліцерин далі метаболізує до фосфотріоз, а жирні кислоти надходять у цикл перетворень, що

носить назву β -окиснення. Цю назву цикл отримав за те, що під час його реакцій утворюється низка проміжних сполук, більшість з яких є β -ізомерами.

Під час реакцій β -окиснення жирних кислот виділяють такі етапи:

1. Активація молекули жирної кислоти на поверхні зовнішньої мембрани мітохондрії. Протікає подібно до вхідної реакції у цикл Кребса з приєднанням субстрату до коферменту А й утворенню складної сполуки, об'єднаної тіоефірним зв'язком. Продуктом цієї реакції є ацил-КоА, а її обов'язковими учасниками – АТФ йони магнію.

2. Перенесення ацил-КоА крізь мембрани усередину мітохондрії. Протікає цей процес за допомогою транспортного бвлку карнітину. Цей переносник має активний центр, видоспецифічний до ацил-КоА, одночасно неактивована жирна кислота (що не приєднана до коферменту А), не може приєднатися до молекули карнітину, тому не здатна транспортуватися у мітохондрію.

На поверхні зовнішньої мембрани мітохондрії транспортний білок з'єднується з молекулою ацил-КоА й утвориться комплекс карнітин–ацил-КоА. Далі цей комплекс переміщується усередину мітохондрії, де у матриксі змінює конформацію й звільняє жирну кислоту, а сам повертається назад на зовнішню мембрану мітохондрії й приєднує нову молекулу жирної кислоти.

3. Окиснення молекули ацил-КоА (рис. 2.32.).

У матриксі мітохондрії ацил-КоА вступає у реакції власне β -окиснення. По суті, він слугує полімерною матрицею від якої під час одного циклу перетворень, відщеплюється мономер – ацетил-КоА і виділяється енергія. Один оберт β -окиснення вкорочує вуглецевий ланцюг молекули жирної кислоти на два атоми карбону (ацетильна група, що відривається від жирної кислоти й переноситься на кофермент А з утворенням ацетил-КоА).

Подальший метаболізм утвореного ацетил-КоА різний – ця молекула може вступати далі в реакції циклу Кребса безпосередньо у матриксі мітохондрії й ставати джерелом енергії, а може переноситися у гліюкисому, де вступати у перетворення гліюкислатного циклу.

Укорочений ацил-КоА знову вступає у реакції β -окиснення до повного розпаду з відщепленням радикалу.

Енергетичний еквівалент одного оберту β -окиснення жирної кислоти з утворенням однієї молекули ацетил-КоА складає 5 АТФ.

Проте, як бачимо, чистий АТФ не утворюється, а енергія запасується у відновлених коферментах ФАД•Н₂ і НАДФ•Н₂, тобто для утворення АТФ після цього метаболічного шляху обов'язковим є третій етап основного шляху дихання, а саме дихальний електрон-транспортний ланцюг.

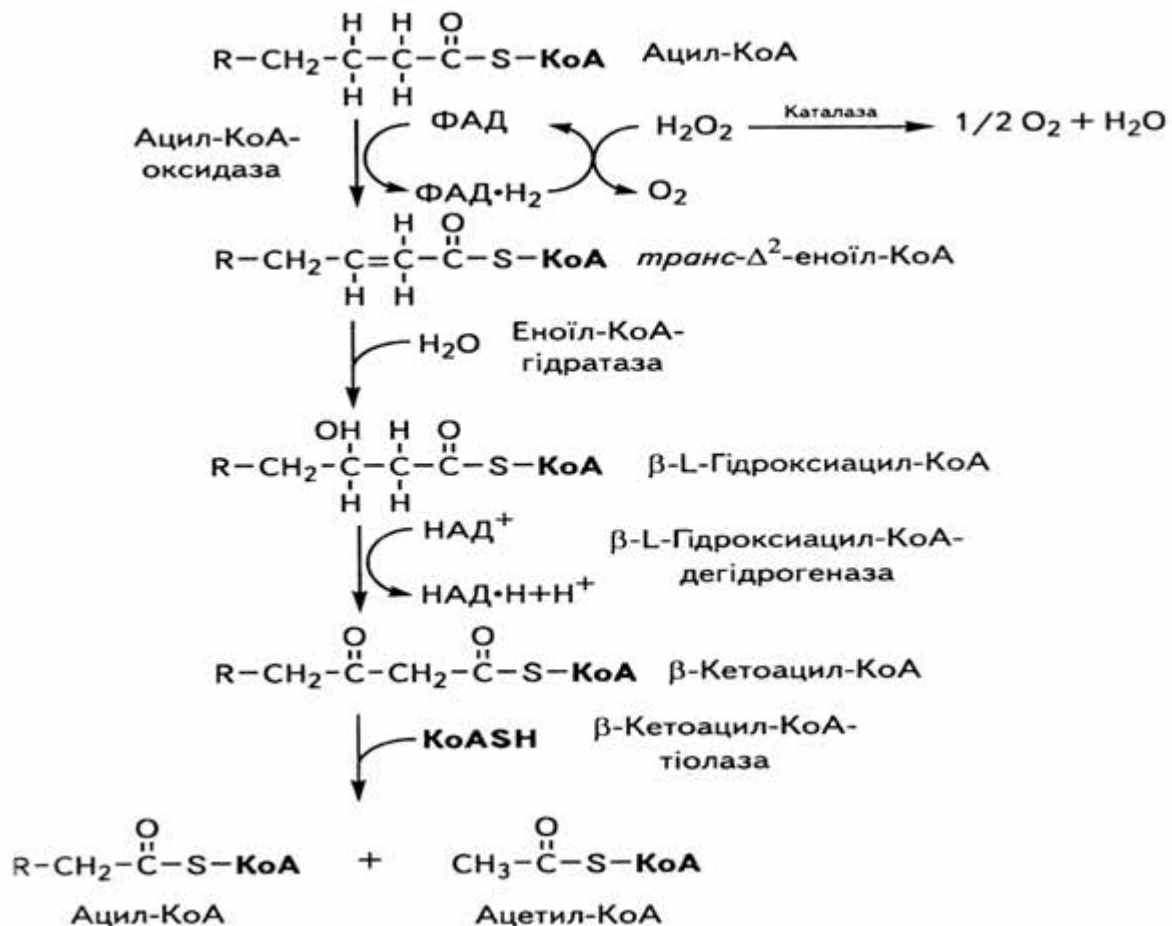


Рис. 2.32. β -окиснення жирних кислот (за М. Мусієнко, 2005)

2.3.3. Гліоксилатний цикл (цикл гліоксилової кислоти)

Рослинні організми, також як і організми тварин, можуть окиснювати ліпіди, проте у рослин цей процес забезпечує гліоксилатний цикл, або цикл гліоксилової кислоти. Зазвичай, ліпіди у рослин накопичуються набагато рідше, аніж у тваринних організмів і, як правило, лише у насінні. Ті рослини, що накопичують у своєму насінні жири називають олійними і часто є господарсько цінними культурами. Насіння таких культур проростає по-іншому, як у звичайних рослин, котрі накопичують крохмаль. Під його проростання тригліцерол з ліпідів використовується для підтримки процесів росту, доки не розпочнеться фотосинтетичне утворення глюкози. Такий етап онтогенезу олійних культур деколи називають «гетеротрофним», що не зовсім коректно, оскільки органічні речовини, що є джерелом живлення проростка у цей період, отримуються не із зовнішнього середовища унаслідок власне гетеротрофного живлення, а є продуктом асиміляції вуглекислого газу попереднім поколінням. Цьому періоду теж притаманна трансформація значної частки запасних ліпідів у вуглеводи, що відбувається у процесі глюконеогенезу. Подібний метаболізм мають також запасні білки, що накопичуються у насінні білкових рослин (наприклад, у бобових, котрі здатні до симбіотичної азотфіксації і можуть собі «дозволити» накопичувати азотовмісні сполуки у якості запасних поживних речовин). Проте, такі метаболічні процеси є енергозатратними і потребують

великої кількості АТФ, джерелом котрого є окисне фосфорилювання (дихання). Під час катаболізму жирів і інших неуглеводневих сполук, відновлені коферменти НАДФ•Н₂ і ФАД•Н₂ утворюються під час першого етапу деградації, що у випадку ліпідів включає β-окиснення жирних кислот, гліюксилатний цикл і частково другий етап основного шляху дихання, тобто цикл Кребса.

Як відомо, клітини рослинних організмів вкриті целюлозно-пектиновими оболонками, сукупність яких власне й формує рослинний організм. Целюлоза і пектини є полімерними вуглеводами і для їхнього синтезу необхідні мономери – молекули моносахаридів. Під час проростання насіння, що замість крохмалю містить іншої природи запасні поживні сполуки, безпосереднім джерелом моносахаридів не забезпечені. Тому для забезпечення потреб у пластичних сполуках під час ростових процесів необхідна трансформація жирів чи білків у вуглеводи. Звичайно, як жири, так і білки є цінними енергетичними речовинами і під час окиснення дають достатньо молекул АТФ для забезпечення потреб проростків в енергії, але, окрім енергії, для росту молодих рослин необхідний також і будівельний матеріал – вуглеводи. Саме утворення попередників для трансформації неуглеводневих сполук у моносахариди є завданням альтернативного основному шляху дихання (а саме його другого етапу, тобто циклу Кребса) гліюксилатного циклу.

Реакції цього нового метаболічного шляху дихання уперше описані у бактерій та цвілевих грибів Гансом Корнбергом і Гансом Кребсом у 1957 році. Першовідкривачі назвали цей цикл гліюксилатним через утворення у його реакціях гліюксилової кислоти, що відрізняє його від циклу Кребса. Протікає гліюксилатний цикл у гліюксисомах деяких вищих рослин, але у тваринних організмах наразі не виявлений.

Цикл гліюксилової кислоти розпочинається аналогічно циклу Кребса і дві перші реакції у ньому аналогічні першим реакціям другого етапу основного шляху дихання (рис. 2.13., 2.14.). Тобто, вхідною молекулою у цикл є ацетил-КоА (активована пірвіноградна кислота). Первинним акцептором ацетильної групи від пірватату в гліюксилатному циклі є також щавелевооцтова кислота, що, приєднавши двокарбонувий фрагмент молекули ацетил-КоА, перетворюється у лимонну кислоту (цитрат), а кофермент А звільняється із комплексу, надаючи енергію тіоефірного макроергічного зв'язку для утворення органічного зв'язку між атомами карбону у скелеті цитрату. Утворена шестикарбонна лимонна кислота ізомеризується в ізолимонну через цис-аконітат, аналогічно як у циклі Кребса.

Наступною є реакція, що й відрізняє цикл гліюксилової кислоти від циклу Кребса. У ній ізолимонна кислота не вступає в окисно-відновну реакцію, як у другому етапі основного шляху дихання, а, під впливом ізоцитратліази, розщеплюється на чотирикарбонуву бурштинову кислоту (сукцинат) та двокарбонуву гліюксилуву кислоту (рис. 2.33.).

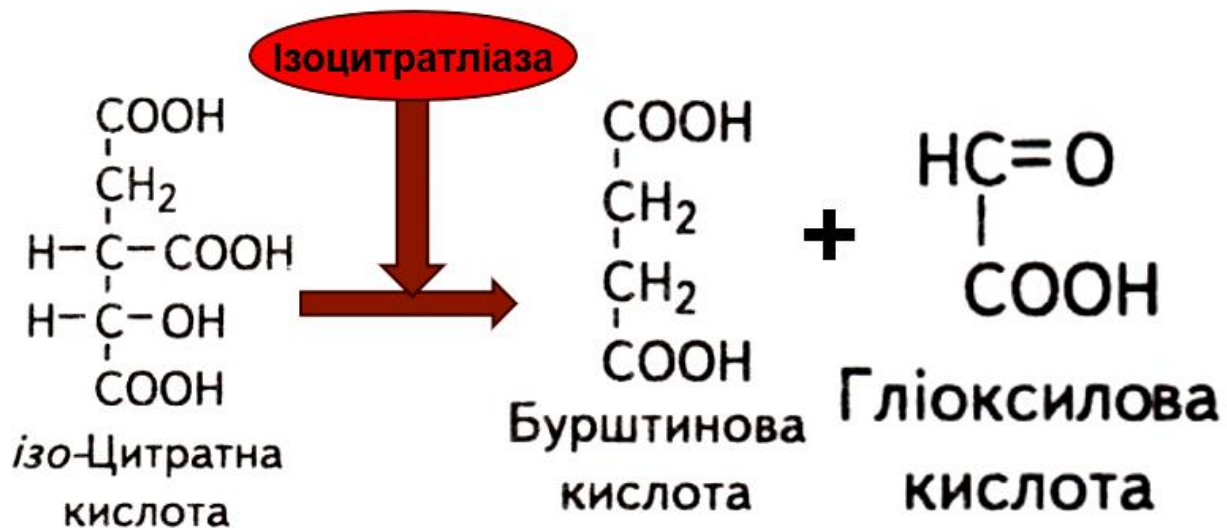


Рис. 2.33. Утворення гліоксилової кислоти

Утворена гліоксилова кислота, за дії малатсинтетази та участі молекули води, приєднує двокарбовону ацетильну групу від ще однієї молекули ацетил-КоА. Продуктом реакції є чотирикарбовоний малат (яблучна кислота), що акумулює у своєму вуглецевому скелеті енергію тієфірного зв'язку, що розривається, звільняючи кофермент А з комплексу ацетил-КоА (рис. 2.34.).

Далі малат вступає в окисно-відновну реакцію, що каталізується мультиферментним дегідрогеназним комплексом за участі кофермента НАД⁺, котрий виступає акцептором електронів і катіонів Н⁺ і відновлюється до НАД•Н₂. Малат окиснюється до щавелевооцтової кислоти (оксалоацетату) (рис. 2.35.).

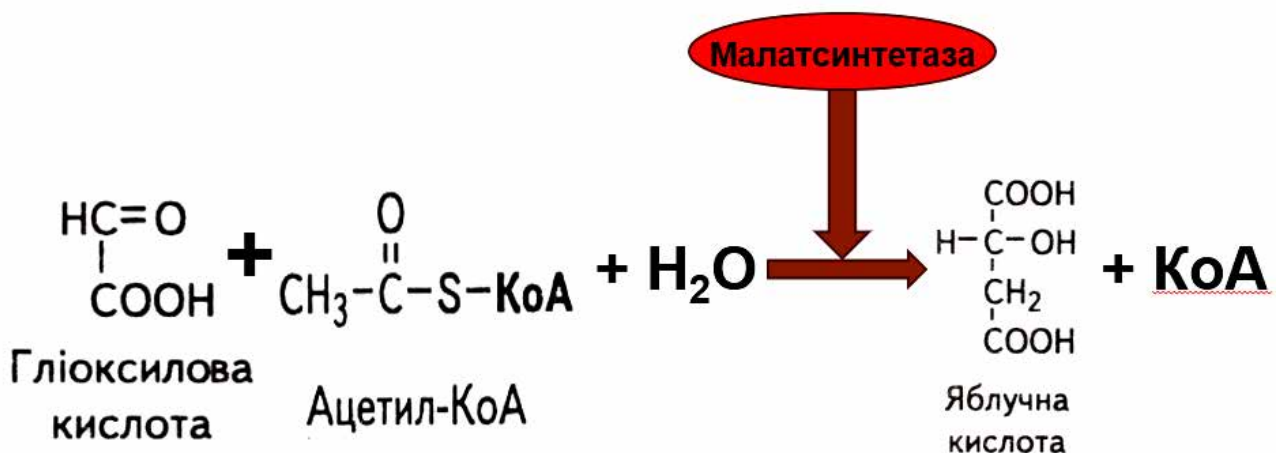


Рис. 2.34. Утворення малату

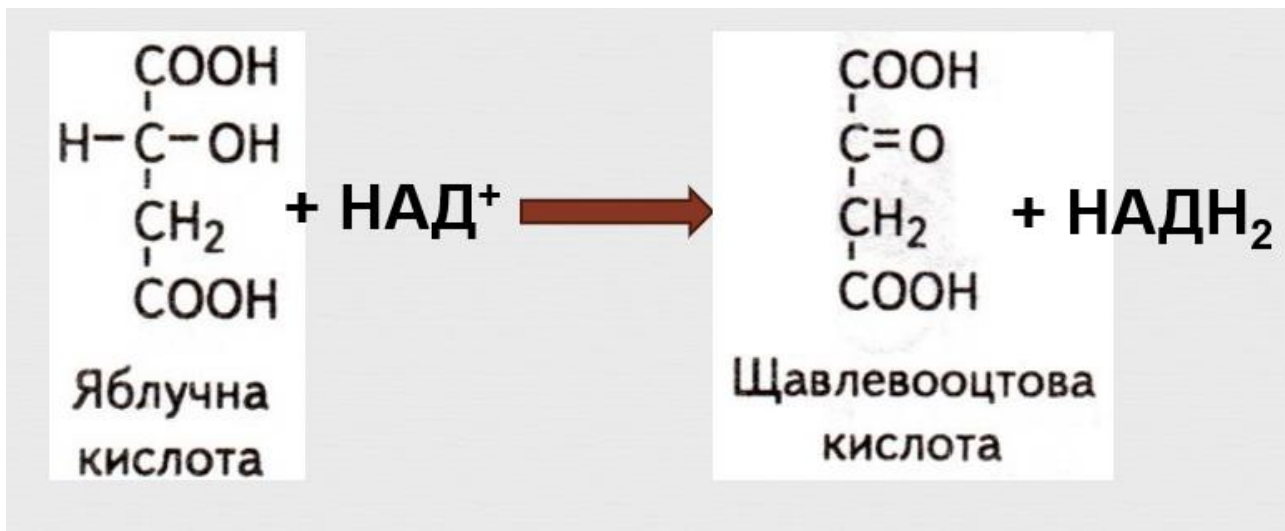


Рис. 2.35. Утворення щавелевооцтової кислоти

Інший залишок ізоцитрату – чотирикарбонова бурштинова кислота (сукцинат) – метаболізує доволі пластично. Спершу вона перетворюється у фумарову кислоту, а далі – у яблучну й щавелевооцтову кислоти. Оксалоацетат може повертатись у перші реакції циклу, тобто таким чином відбувається регенерація первинного акцептора ацетильної групи гліоксилатного циклу, або ж перетворюватися у фосфоенолпіруват. Утворена фосфоенолпіровиноградна кислота далі іде в різні метаболічні цикли, але за необхідності синтезу глюкози – поступає у *глюконеогенез* (рис. 2.36.).

Отже, у вищих рослин ферменти гліоксилатного циклу локалізовані у гліоксисомах – одномембранних органелах, що є спеціалізованими пероксисомами (їхня назва походить від циклу, що забезпечується їхнім ферментним складом). Ферменти, які одночасно беруть участь і в циклі трикарбонових кислот, і в гліоксилатному циклі, мають по два ізоферменти, один з яких локалізується в мітохондріях, а інший – у гліоксисомах. Гліоксисоми не присутні постійно в усіх рослинних тканинах. Вони утворюються в насінні олійних культур під час його проростання, і функціонують до того часу, поки проросток не перейде на утворення глюкози під час фотосинтезу.

Окрім ферментів гліоксилатного циклу, в гліоксисомах містяться всі ферменти, необхідні для деградації жирних кислот, запасених у насінні. Ацетил-КоА, що утворюється під час β -окиснення жирних кислот, перетворюється на сукцинат під час гліоксилатного циклу, і сукцинат транспортується до мітохондрій, де він залучається до циклу трикарбонових кислот і перетворюється на малат.

Цитозольний ізофермент малатдегідрогенази окислює малат до оксалоацетату, який зі свого боку може перетворитися на фосфоенолпіруват. Останній залучається до глюконеогенезу і дає в кінцевому підсумку глюкозу. Таким чином, насіння, що проростає, може трансформувати органічний карбон ліпідів у глюкозу.

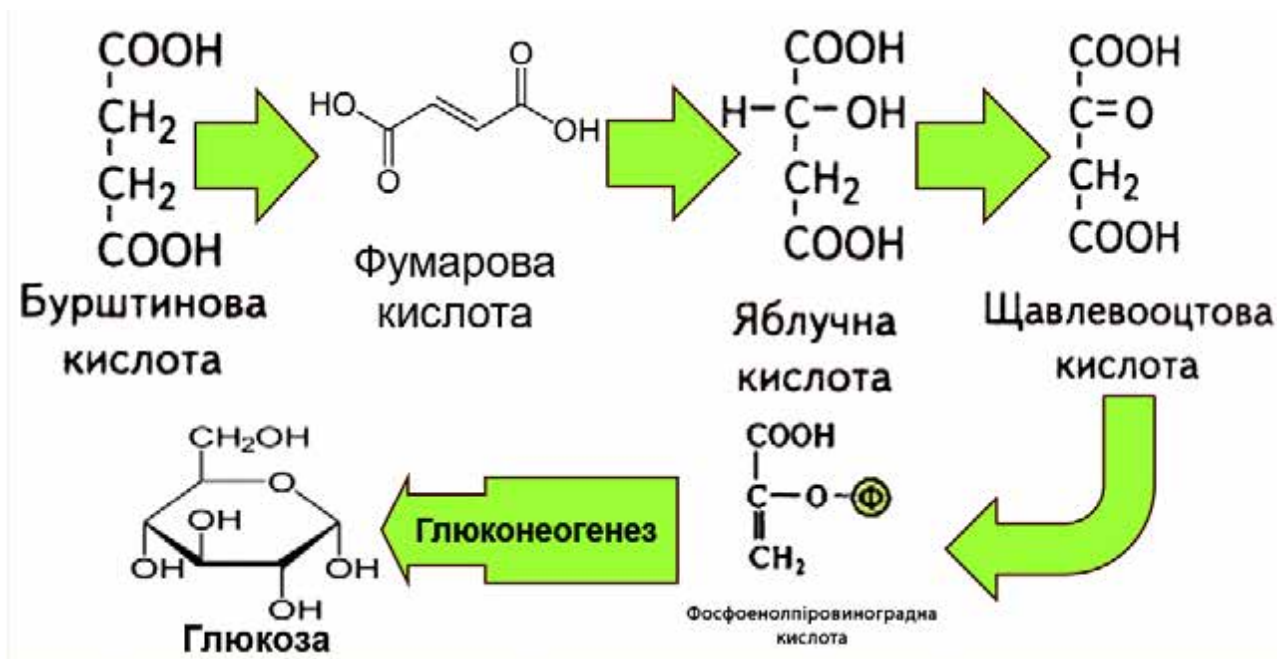


Рис. 2.36. Метаболізм кінцевих продуктів гліоксилатного шляху

2.3.4. Глюконеогенез

Глюконеогенез – є метаболічним шляхом, котрий призводить до синтезу молекули глюкози із попередників неуглеводневої природи, наприклад піровиноградної кислоти. Глюконеогенез є синтетичним процесом і тому потребує затрат енергії. Цей метаболічний шлях є притаманним більше тваринним організмам, у яких є основним шляхом синтезу глюкози, проте в окремих рослин він також трапляється. Хоча основним шляхом утворення глюкози у рослин є фотосинтез, в окремих випадках вона може утворюватися і під час глюконеогенезу. Це особливо характерно для проростаючого насіння олійних чи білкових культур, у яких поживні речовини перебувають у нецукровій формі, а фотосинтез ще не відбувається і тому не може забезпечити потреб у пластичних речовинах проростка.

Реакції глюконеогенезу дуже нагадують «гліколіз навпаки», оскільки цей шлях призводить до утворення глюкози з пірувату, а гліколіз – пірувату з глюкози. Проте, глюконеогенетичні реакції не є абсолютно ідентичними до гліколітичних, назагал спільними є лише сім із десяти реакцій.

Глюконеогенез, як і гліколіз, в основному протікає делокалізовано і його ферменти містяться у гіалоплазмі, але в еукаріотичних клітинах розпочинається цей шлях із мітохондрій – його перше перетворення протікає у матриксі (рис. 2.37.).

Гліколітичне перетворення фосфоенілпірувату у молекулу піровиноградної кислоти, що є реакцією субстратного фосфорилювання АТФ (остання реакція шляху), є незворотною. Тому у реакціях глюконеогенезу зворотне перетворення піровиноградної у фосфоенілпіровиноградну кислоту протікає не прямим, а обхідним шляхом і відбувається у дві реакції, що каталізуються як мітохондріальними ферментами, так і ферментами гіалоплазми.

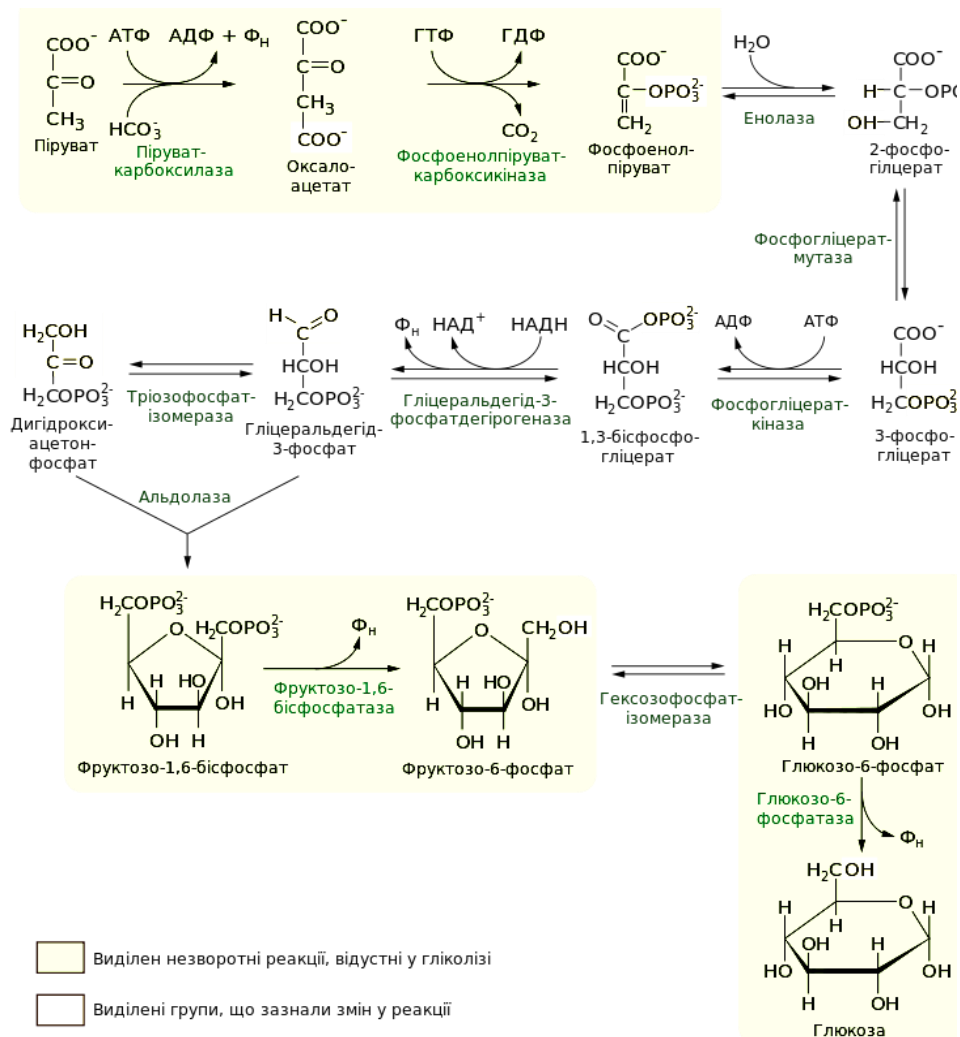


Рис. 2.37. Схема протікання реакцій глюконеогенезу

<http://surl.li/rkyag>

Першою реакцією глюконеогенезу є карбоксилювання пірувату до щавелевооцтової кислоти піруваткарбоксилазою (рис. 2.38.). Коферментом цього ферменту є біотин, що виконує функцію носія дикарбонату, котрий спершу активується з утворенням карбоксифосфату унаслідок гідролізу одного фосфатного зв'язку у молекулі АТФ. Донором карбону у цій реакції виступає йонна форма HCO_3^- – розчинений у воді вуглекислий газ.

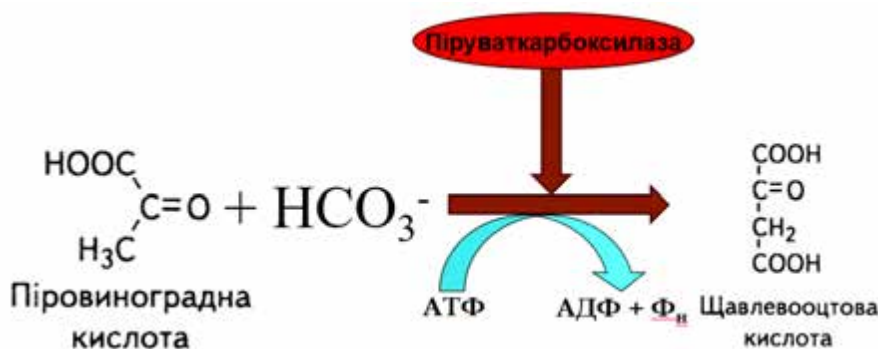


Рис. 2.38. Перша реакція глюконеогенезу – карбоксилювання пірувату до оксалоацетату

Наступною є реакція одночасного декарбоксилювання щавелевооцтової кислоти та її фосфорилування (рис. 2.39.). Каталізує це перетворення фосфоенолпіруваткарбоксикіназа за наявності катіонів Mg^{2+} та гуанозинтрифосфату (ГТФ), що виступає донором енергії та фосфатної групи для фосфорилування щавелевооцтової кислоти з утворенням фосфоенолпірувіноградної кислоти. Ця реакція є зворотною.

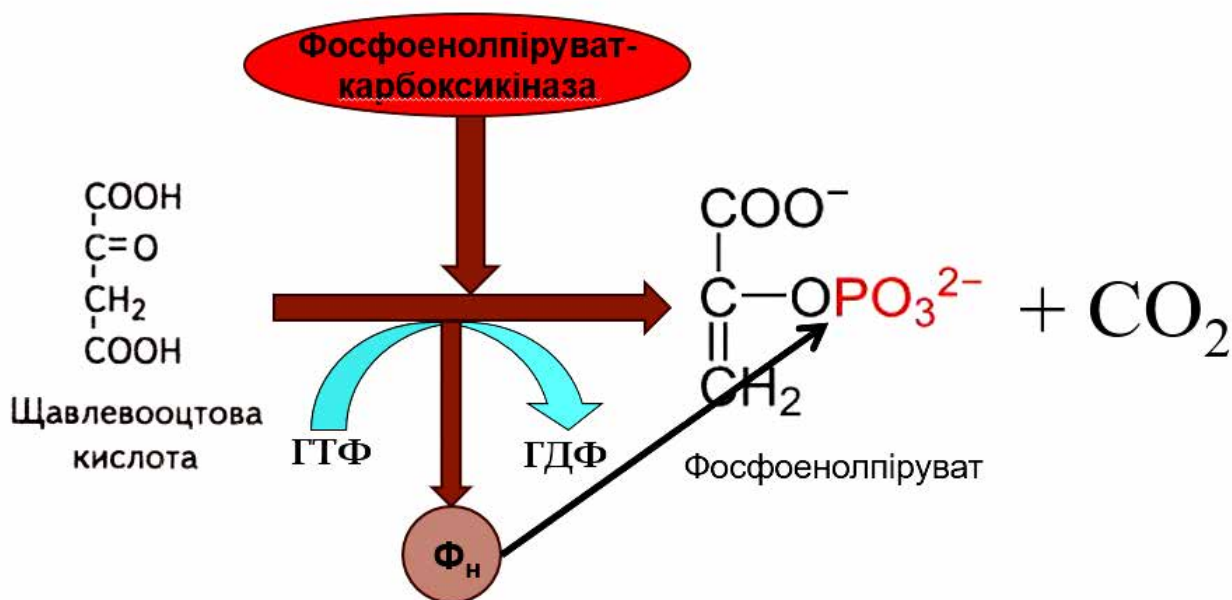


Рис. 2.39. Декарбоксилювання та фосфорилування оксалоацетату до фосфоенолпірувату

Таким чином, перші реакції глюконеогенезу, що призводять до утворення молекули фосфоенолпірувіноградної кислоти з пірувату затрачають два фосфатних макроергічних зв'язки нуклеотидтрифосфатів – один в АТФ і ще один у ГТФ. Зворотний процес дефосфорилування фосфоенолпірувату у гліколізі призводить до утворення лише одного фосфатного зв'язку у молекулі АТФ.

Утворення щавелевооцтової кислоти відбувається за участі піруваткарбоксилази, що є мітохондріальним ферментом, тому ця реакція завжди протікає у матриксі мітохондрії. Наступні реакції глюконеогенезу відбуваються у цитозолі (гіалоплазмі) цитоплазми, проте мають кілька варіантів подальшого протікання. Синтезований у мітохондріях оксалоацетат для наступних перетворень повинен транспортуватися із мітохондрій у гіалоплазму, але на внутрішній мембрані мітохондрій немає видоспецифічного до оксалоацетату транспортного білку, тому щавелевооцтова кислота безпосередньо переноситися в цитозоль не може. Тому для транспорту оксалоацетат спершу відновлюється малатдегідрогеназою, коферментом якої є $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$, до малату (яблучної кислоти), котра переноситься через мембрани мітохондрій у гіалоплазму де знову окиснюється до щавелевооцтової кислоти. Це так званий «човниковий транспорт» щавелевооцтової кислоти.

Після утворення фосфоенолпірувіноградної кислоти, реакції глікогеногенезу протікають як і гліколітичні, лише в іншому напрямку.

Спершу фосфоенолпіруват, за дії альдолази, трансформується на 2-фосфогліцеринову кислоту (рис. 2.40.).

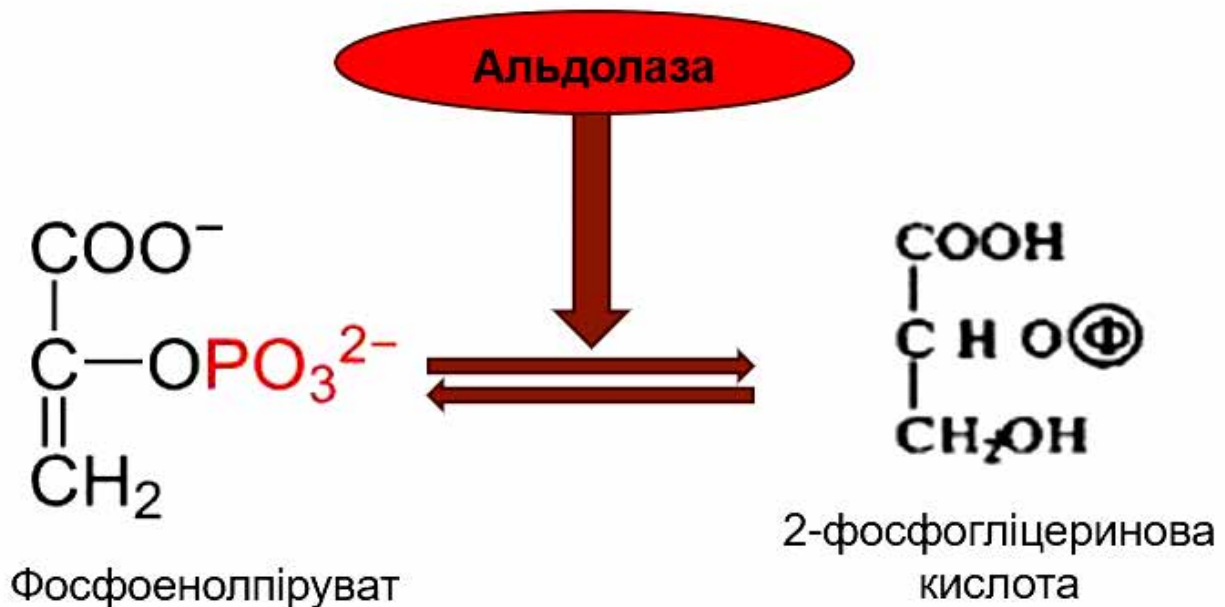


Рис. 2.40. Утворення 2-фосфогліцеринової кислоти

Потім, за дії ферменту фосфогліцератмутази, 2-фосфогліцеринова трансформується у 3-фосфогліцеринову кислоту (рис. 2.41.).

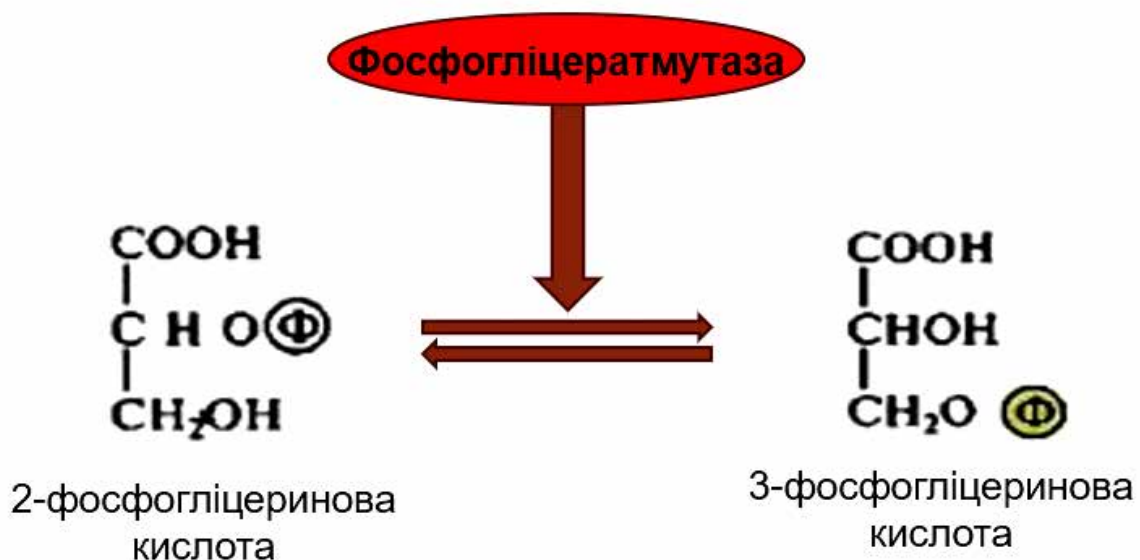


Рис. 2.41. Утворення 3-фосфогліцеринової кислоти

Утворена 3-фосфогліцеринова кислота, за дії ферменту фосфогліцераткінази, фосфорилюється за рахунок молекули АТФ до 1,3-дифосфогліцеринової кислоти (рис. 2.42.).

Молекула 1,3-дифосфогліцеринової кислоти вступає в єдину окисно-відновну реакцію глюконеогенезу й відновлюється гліцераальдегід-3-фосфат дегідрогеназою, коферментом якої є НАДФ•Н₂, до 3-фосфогліцеринового альдегіду. У реакції відбувається розрив одного макроергічного фосфатного зв'язку з виділенням неорганічного фосфору й окиснення НАДФ•Н₂ до НАДФ⁺ (рис. 2.43.).

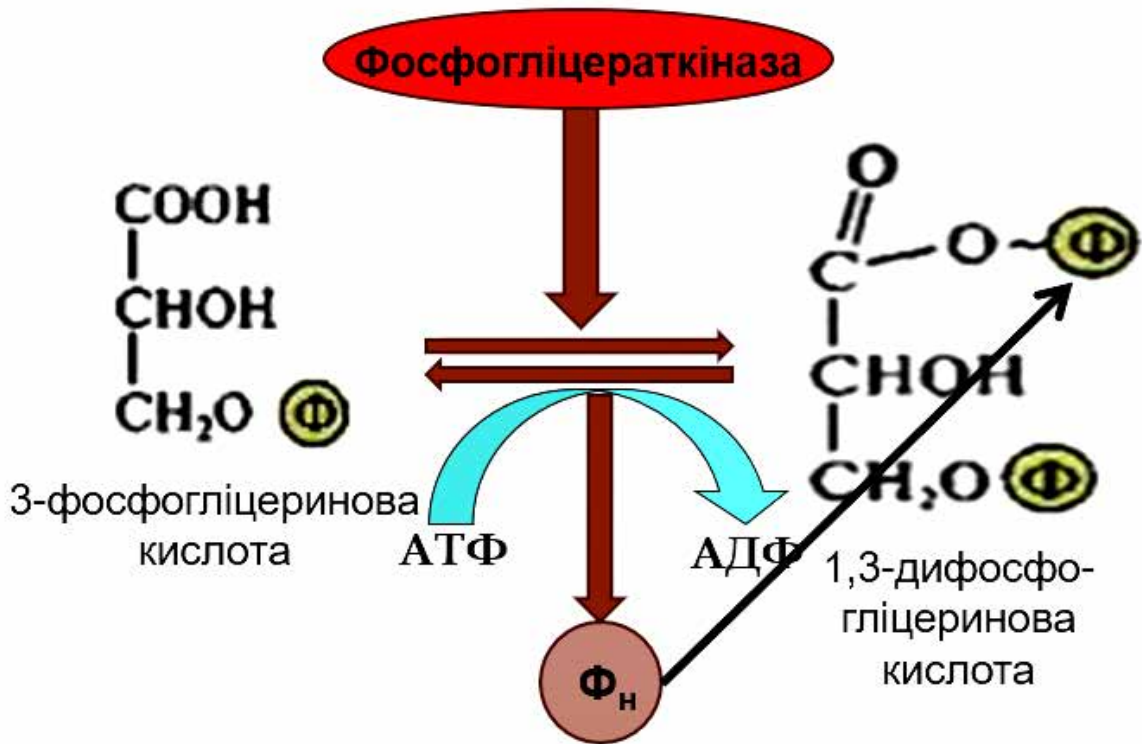


Рис. 2.42. Утворення 1,3-дифосфогліцеринової кислоти

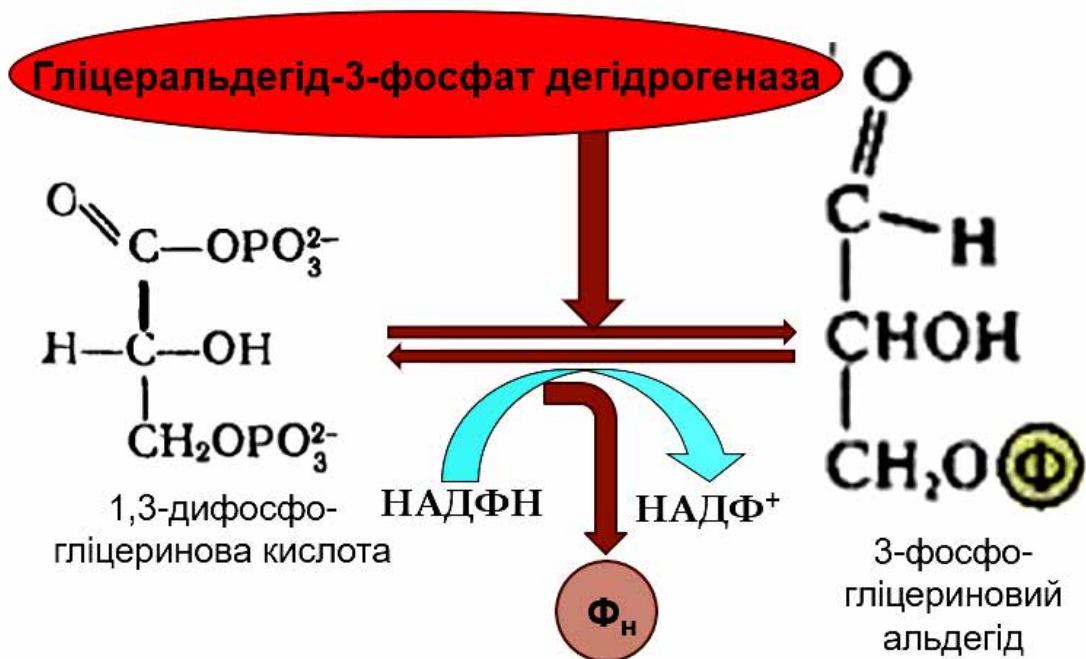


Рис. 2.43. Утворення 3-фосфогліцеринового альдегіду

Наступним перетворенням є ізомеризація фосфотріоз, у котрій 3-фосфогліцериновий альдегід, за дії тріозофосфатізомерази, перетворюється у дигідроацетонфосфат (рис. 2.44.). Для синтезу молекули глюкози необхідне утворення двох фосфотріоз, тому усі попередні реакції є подвійними і протікають одночасно з двома молекулами. Реакції ізомеризації є взаємооберненими і можуть протікати як в одному, так і в іншому напрямку, але шлях продовжується лише тоді, як у середовищі утворюються два стереоізомери.

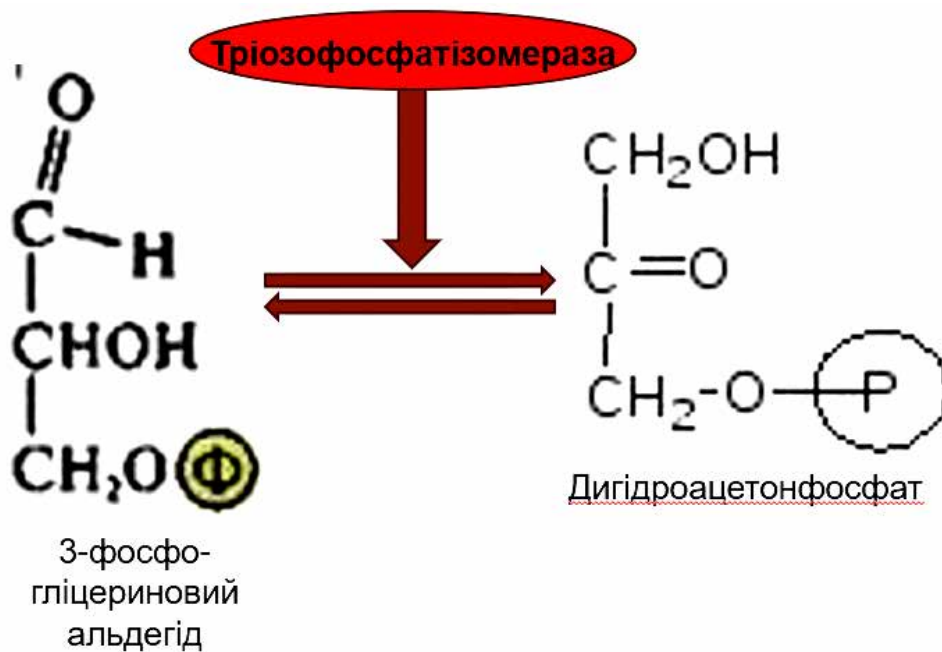


Рис. 2.44. Ізомеризація фосфотріоз

Утворені 3-фосфогліцериновий альдегід і дигідроацетонфосфат у наступній реакції конденсуються до молекули гексози – фруктозо-1,6-дифосфату. Каталізує перетворення альдолаза (рис. 2.45.).

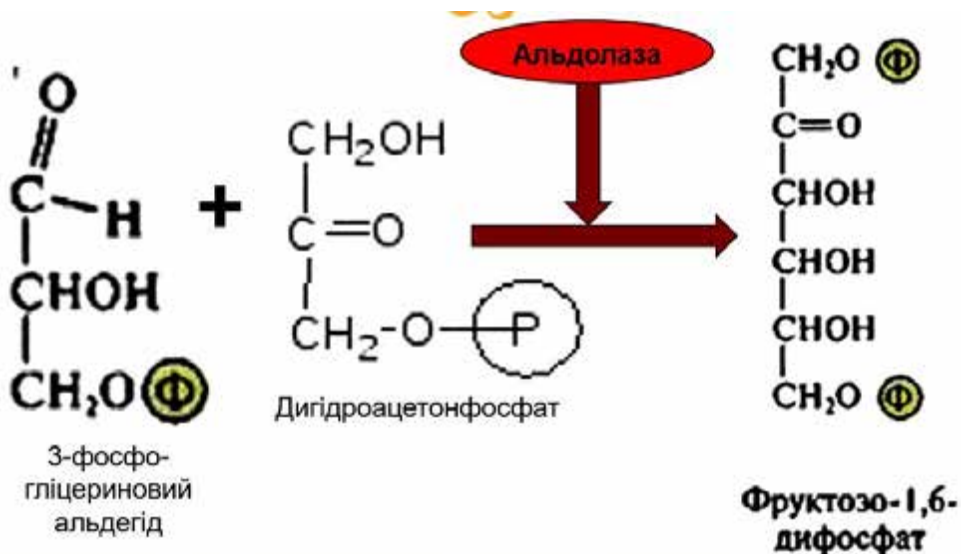


Рис. 2.45. Конденсація фосфотріоз і утворення першої гексози

Далі молекула фруктозо-1,6-дифосфату, під впливом дефосфатази, дефосфорилюється до монофосфату – фруктозо-6-фосфату з виділенням неорганічного фосфору в навколишнє середовище (рис. 2.46.).

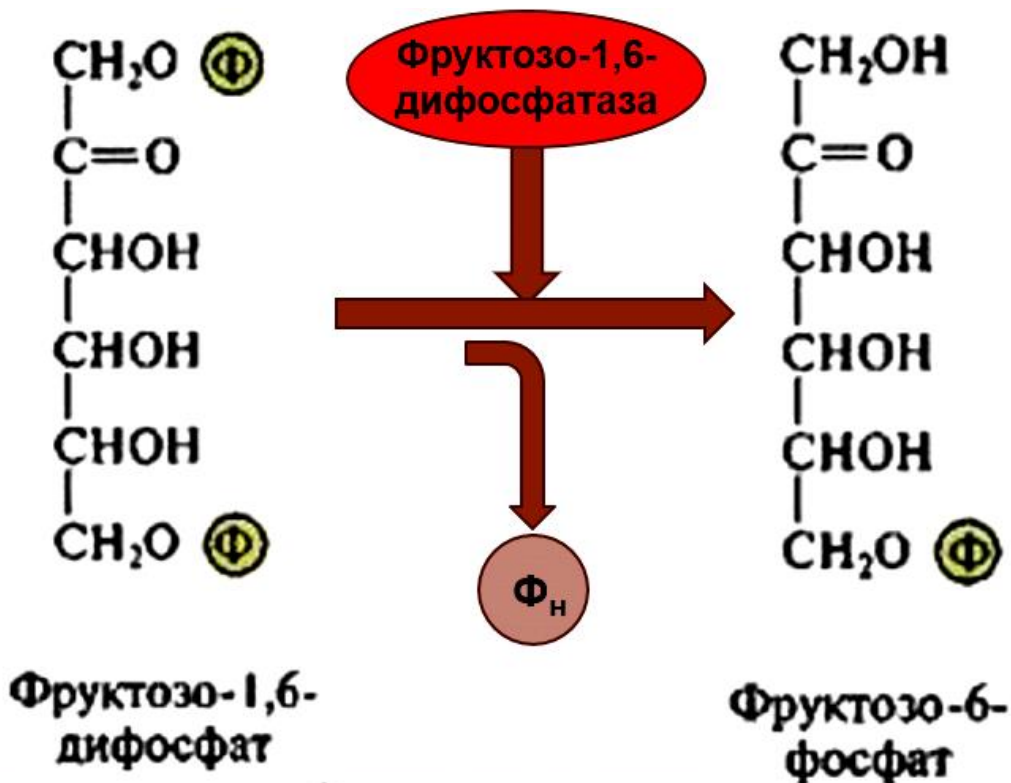


Рис. 2.46. Дефосфорилювання фруктозо-1,6-дифосфату

У наступній реакції фруктозо-6-фосфат ізомеризується до глюкозо-6-фосфату. Каталізує реакцію гексозофосфатізомераза (рис. 2.47.).

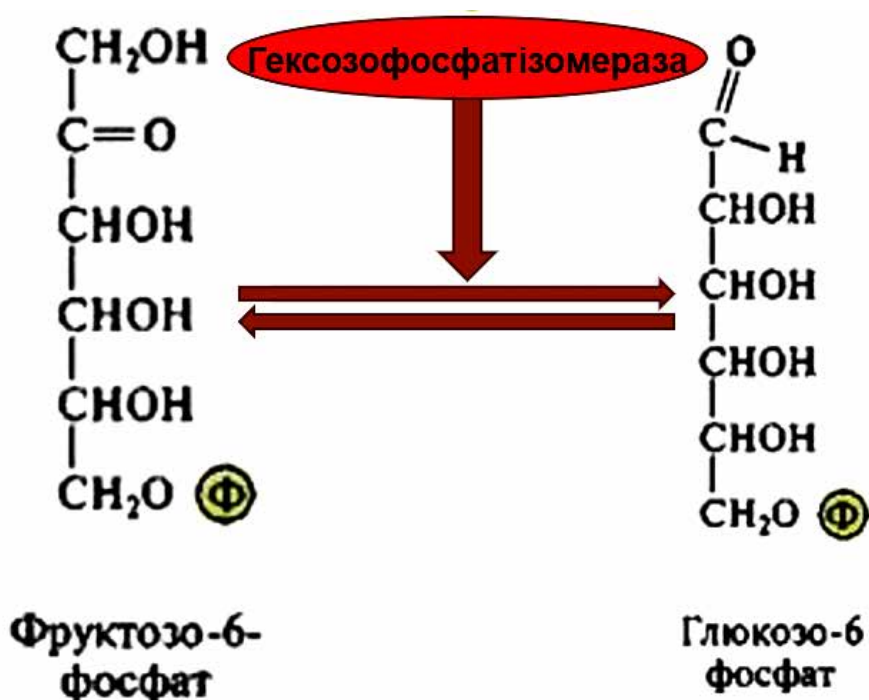


Рис. 2.47. Ізомеризація фруктозо-6-фосфату

Утворений глюкозо-6-фосфат, за дії глюкозо-6-фосфатази, дефосфорилується втрачаючи фосфатний зв'язок до глюкози, а фосфор виділяється у неорганічній формі в навколишнє середовище (рис. 2.48.).

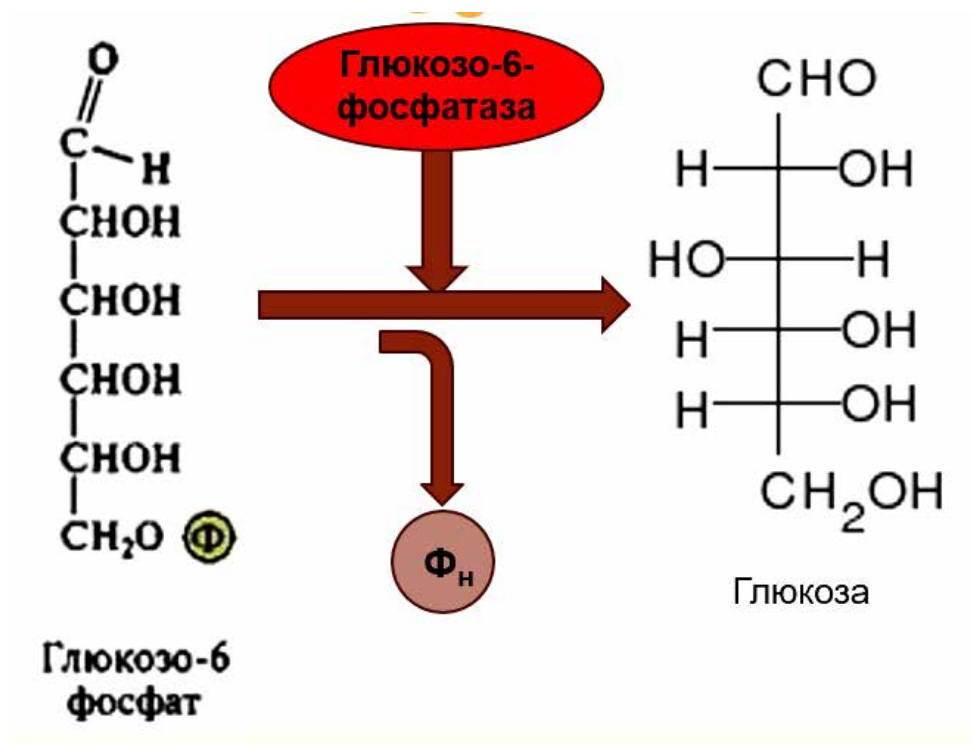


Рис. 2.48. Утворення молекули глюкози

Отже, для утворення однієї молекули глюкози під час метаболічних перетворень гліколізу витрачається енергетичний еквівалент 12 молекул АТФ – чотири безпосередньо у формі АТФ, дві ГТФ, а також дві молекули окисненого НАДФ•Н₂ до НАДФ⁺, що є еквівалентними шести фосфатним зв'язкам у молекулах АТФ.

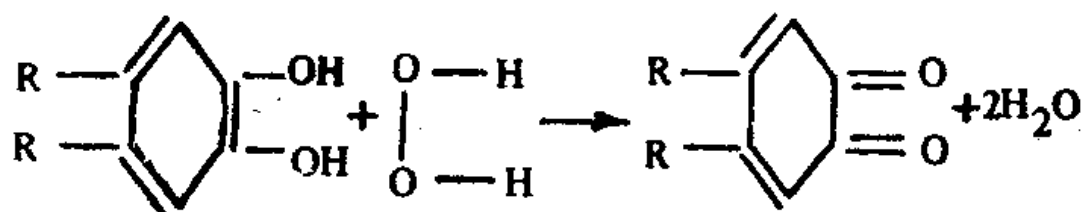
Лабораторна робота № 5

Якісні реакції на ензими окисних електронтранспортних ланцюгів

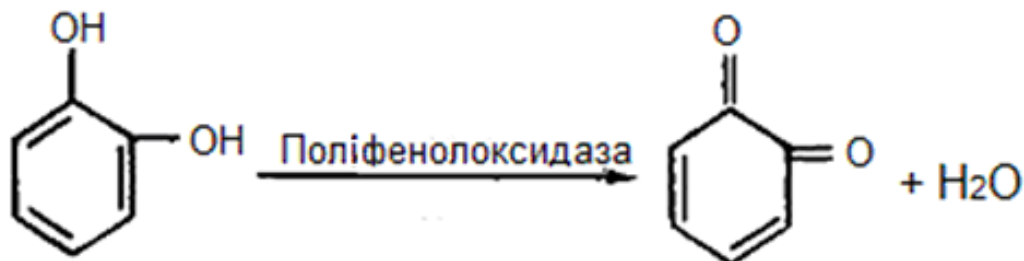
Дихання – це складний багатокомпонентний процес, що включає низку окисно-відновних реакцій, котрі переносять водень із субстратів дихання на молекулярний кисень з відновленням молекули перекису водню або води. За умов утворення Н₂О₂ необхідним є окиснення його молекули до води, що забезпечує каталаза. Різноманітність варіантів протікання реакцій дихання дозволяє акцептувати електрони від різноманітних субстратів і таким чином мобілізувати акумульовану енергію їхніх хімічних зв'язків (рис. 2.49.).



а)



б)



в)

Рис. 2.49. Реакція розщеплення перекису водню ферментом каталазою (а), перетворення фенолів у хінони за участі пероксидази (б), окиснення фенолів з пірокатехінів за участі поліфенолоксидази (в)

<http://surl.li/sdehl>

Мета роботи: Порівняти активність дегідрогенази, поліфенолоксидази, пероксидази і каталази в різних видах рослин. Активність дегідрогеназ визначити за швидкістю віддавання ними водню на метиленовий синій, який знебарвлюється. Активність поліфенолоксидази (окиснює полі феноли киснем повітря у хінони) встановити за зміною забарвлення гваякової смоли (містить поліфеноли) із жовтого у коричневий колір. Активність пероксидази (окиснює поліфеноли та ароматичні аміни киснем перекису водню) визначити так само за реакцією окиснення поліфенолів гваяковою смолою з додаванням перекису водню. Активність каталази (розщеплює токсичний для клітин перекис водню до води і молекулярного кисню) встановити за виділенням кисню і утворенням піни.

Предмети і матеріали. Пророслі насінини квасолі, витяжна шафа, водяна баня, пробірки, чашки Петрі, метиленовий синій, гваякова смола, перекис водню.

Хід роботи:

1. Дослідні об'єкти (пророслі насінини квасолі) очистити від шкірки і поділити на 2 половинки. Половинки помістити у пробірки і залити метиленовим синім. Через 10 хв барвник злити, половинки промити, заповнити пробірки водою доверху, закрити пробкою і помістити на водяну баню (40 °С). За швидкістю знебарвлення метиленового синього зробити висновок про активність дегідрогеназ. Відзначити час, який необхідний для знебарвлення рослинного матеріалу.

2. У витяжній шафі на чашці Петрі розкласти половинки. На одну половинку нанести розчин гваякової смоли, на іншу – розчин гваякової смоли та

перекису водню. Побуріння поверхні у першому випадку свідчить про присутність у клітинах поліфенолоксидази (о-дифенолоксидази), у другому варіанті – про результат сукупної дії поліфенолоксидази і пероксидази (або тільки пероксидзи, якщо відсутня поліфенолоксидаза). У разі, коли присутні обидва ферменти, побуріння при перетворенні гваякової смоли і перекису водню відбувається швидше.

3. На окремі половинки нанести перекис водню і за його присутності спостерігати утворення піни у результаті виділення кисню, що свідчить про присутність каталази. Для контролю в усіх дослідах використовувати матеріал, ферменти якого були інактивовані кип'ятінням. Відзначити час, який необхідний для зміни забарвлення рослинного матеріалу. Результати занести у таблицю 2.1.

4. Проаналізувати результати та записати висновки.

Таблиця 2.1

Об'єкт	Знебарвлення мет.-синього, хв	Побуріння за дії гваякової смоли	Побуріння за дії гваякової смоли + H ₂ O ₂	Утворення піни під дією H ₂ O ₂

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. У яких органах дихання проходить інтенсивніше: листках, суцвіттях, стеблах, бруньках чи в паренхімі і чому?
2. Яку роль виконує кисень у процесах дихання?
3. Чому після перших морозів стають солодшими і смачнішими ягоди горобини, калини та деяких інших рослин?

Лабораторна робота № 6

Визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеного вуглекислого газу

Інтенсивність дихання різниться у різних видів, окремих органів та тканин рослин. У сукулентів інтенсивність дихання низька, а у у хвойних – дещо вища. Висока інтенсивність дихання у деяких бактерій та грибів. У вищих рослин максимальну інтенсивність дихання мають квіти, які дихають у 2,0-4,5 рази інтенсивніше за листки. Логічно, що висока інтенсивність дихання спостерігається у молодих органах та тканинах рослин, оскільки з віком рівень дихання слабшає.

Інтенсивність дихання також посилюється у присутності елементів мінерального живлення (Со, Р, Мо, Сі та ін.). При цьому, на інтенсивність

дихання впливають температура, умови водопостачання, наявність кисню та вуглекислого газу повітря та, опосередковано, світло. Рослини мають здатність дихати у широких температурних амплітудах; дихання не падає при зниженні вмісту кисню в повітрі навіть на 50%, але вміст вуглекислого газу значно впливає: при високому його вмісті дихання суттєво інгібується.

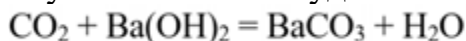
Мета роботи: Визначити інтенсивність дихання у пророслого насіння та насіння, що перебуває у стані спокою.

Предмети і матеріали. Сухе і проросле насіння пшениці, 0,02 н. розчин Ва(ОН)₂, 0,02 н. розчин НСІ, 1% фенолфталеїн, бюретка, колби, корки з гачками, електронні ваги, марля.

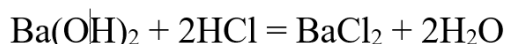
Хід роботи:

1. Приготувати три варіанти досліду: перший – контроль (порожня пробірка), другий – сухе насіння, третій – проросле насіння. Для цього підготувати наважки насіння по 2 г, загорнути їх у марлю і підвісити на гачок у пробірки – 1 контроль (порожня), 2 – наважка з сухим насінням, 3 – наважка з пророслим насінням.

2. Налити на дно пробірок по п'ять мілілітрів Ва(ОН)₂ і по дві краплі однопроцентного розчину фенолфталеїну так, щоб насіння у пробірці не торкалося розчину. Після додавання фенолфталеїну у розчин, він забарвиться у малиновий колір. Залишити дослід на експозицію тривалістю 60 хв (1 год). Виділений під час дихання вуглекислий газ буде взаємодіяти із лугом:



3. Титрувати надлишок бариту НСІ. У кожному пробірці за допомогою бюретки налити по краплях одночасно інтенсивно перемішуючи ту кількість НСІ, котра необхідна для знебарвлення розчину у пробірці:



4. Як тільки розчин знебарвиться – перекрити кран бюретки і відмітити кількість кислоти, що використалася на знебарвлення розчину.

5. Дані внести до таблиці 2.2 і написати висновки, у яких навести дані щодо кількості СО₂, котра виділилася у кожному варіанті.

6. Розрахувати інтенсивність дихання згідно такої формули:

$$I = \frac{(a - b) \cdot 0,55}{P \cdot t},$$

де а – об'єм кислоти у мілілітрах, що використалася для титрування контрольної пробірки; b – об'єм кислоти у мілілітрах, що використалася для титрування варіанту досліду; 0,55 – об'єм СО₂у міліграмах, що є еквівалентним одному мілілітру 0,025 н. розчину НСІ; P – маса насіння у грамах; t – час експозиції, год.

7. Заповнити таблицю і написати висновок.

Таблиця 2.2

Реагенти	Контроль	Сухе насіння	Проросле насіння	Інтенсивність дихання
Ва(ОН) ₂	5 мл	5 мл	5 мл	
1% фенолфталеїн	2 краплі	2 краплі	2 краплі	
НСІ				

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Чому у сухого насіння вуглекислого газу виділилося менше, ніж у пророслого?
1. Які субстрати дихання використалися на утворення вуглекислого газу у насінні пшениці?
3. Чи може вступати у реакції дихання безпосередньо крохмаль? Чому?

Лабораторна робота № 7

Визначення активності пероксидази у соку бульб картоплі

У існуванні живих організмів рослинного походження велику роль відіграють захисні механізми, спрямовані на ліквідацію перекисних сполук, наприклад, пероксиду водню, який має виражену токсичну дію на клітинні компоненти. Велику роль у зазначених процесах відіграє фермент пероксидаза. Рівень активності даного ферменту багато в чому варто розглядати як показник ефективності захисту від негативної дії активних форм кисню, які внаслідок особливостей рослинних організмів утворюються у великій кількості під час метаболізму та при його порушенні за дії певних чинників: хімічних токсикантів, що потрапляють на рослини з опадами, з ґрунту або у разі вирощування сільськогосподарських культур із застосуванням мінеральних добрив тощо.

Мета роботи: Виявити пероксидазну активність у соку бульб картоплі за допомогою реакції окиснення поліфенолів.

Предмети і матеріали. Бульби картоплі, терка, лійка, скальпель, марля, пробірки, штатив, піпетки (на 1 мл і 10 мл), конічна колба на 50 мл, водяна баня, 3 %-й пероксид водню, 1 %-й гідрохінон.

Хід роботи:

1. Бульбу картоплі очистити від шкірки та натерти за допомогою тертки наважку 10 г.
2. За допомогою марлі відтиснути з м'якоті картоплі близько 5 мл соку.
3. У штативі розмістити чотири пробірки й налити у них по 5 мл 1 %-го розчину гідрохінону. Далі до пробірок додати:
 - до 1 – 1 мл картопляного соку та 1 мл 3 %-го розчину пероксиду водню;
 - до 2 – 1 мл 3 %-го розчину пероксиду водню;
 - до 3 – 1 мл картопляного соку;
 - до 4 – 1 мл прокип'яченого упродовж 1 хв на водній бані картопляного соку, та 1 мл H_2O_2 .
4. Зафіксувати зміну забарвлення розчинів у пробірках і записати у таблицю 2.3. Гідрохінон, що доданий у розчин, окиснюється ферментами дихання до хінону, що зумовлює побуріння розчину. Часткове побуріння розчину картопляного соку можливе і без додавання гідрохінону й пероксиду

водню, що зумовлене дією поліфенолоксидази, котра, за участю молекулярного кисню, окиснює поліфеноли картопляного соку.

5. Написати висновок.

Таблиця 2.3

Варіанти дослідів	Наявність компонентів у складі розчинів			Забарвлення розчинів
	Картопляний сік	H ₂ O ₂	Гідрохінон	
Пробірка 1	+	+	+	
Пробірка 2	-	+	+	
Пробірка 3	+	-	+	
Пробірка 4	+	-	+	

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Яка роль поліфенолів у рослин та їхня харчова цінність для людини?
2. Що таке пероксидаза та яка її роль у процесі дихання?
3. Як утворюються хінони у рослин та яке їхнє метаболічне значення?

Питання для обговорення та самоперевірки до Розділу 2:

1. Охарактеризуйте зв'язок між диханням і бродінням. Яке значення відіграє процес дихання у житті рослин?
2. Дайте визначення поняттям окиснення та відновлення. Які ферменти забезпечують такі реакції?
3. Чому аеробне окиснення є ефективнішим ніж анаеробне? Яка енергетика цих процесів?
4. Які шляхи дисиміляції вуглеводів вам відомі?
5. Охарактеризуйте особливості протікання основного шляху дихання. Назвіть основні етапи цього процесу і вкажіть енергетичний баланс кожного з них.
6. Охарактеризуйте альтернативні шляхи окиснення дихальних субстратів. У чому їхня перевага над основним шляхом, а в чому недоліки?
7. Що таке окиснювальне фосфорилування? Назвіть спільні та відмінні риси фотосинтетичного та окиснювального фотофосфорилування.

РОДІЛ 3 СИСТЕМИ РЕГУЛЯЦІЇ У РОСЛИН

Тема 3.1. Ріст і розвиток рослин

Ріст рослини є процесом незворотного збільшення розміру, маси клітин, органів і організму в цілому, яке обумовлене творенням нових структур та елементів, тобто кількісними змінами.

Розвиток рослини є процесом якісних змін в структурі й функціональній активності цілої рослини та її частин (органів, тканин і клітин), що відбуваються впродовж онтогенезу (рис. 3.1.).



Рис. 3.1. Індивідуальний розвиток рослини

<https://smartgrow.com.ua/ru/programs/jarye-zernovye/>

Ріст і розвиток рослини є взаємопов'язаними процесами: ріст є частиною індивідуального розвитку. Проте слід зазначити, що рослина може активно рости, але разом з тим повільно розвиватися або ж навпаки. Показником темпів розвитку, як правило, служить перехід рослин до періоду репродукції. Активність ростових процесів оцінюють за швидкістю збільшення маси, об'єму, розмірів рослини.

Ріст живих організмів характеризується наступними особливостями:

1. Ріст описується S-подібний кривою та включає такі фази: латентну, логарифмічну, уповільнення зростання, стаціонарну і деградації (рис. 3.2.).
2. Ритмічність росту – сприяє рівноцінному розподілу між органами поживних та біологічно активних речовин.
3. Полярність – специфічна орієнтація структур організму рослини (органів, клітин) та активності ростових процесів в просторі. Наприклад, осьова або аксіальна полярність, яка характеризується наявністю чітко вираженої поздовжньої осі, яка має приєднані латеральні органи – корені, гілки, листя, квіти.

4. Диференціація клітин та тканин у процесі росту.
5. Корелятивний ріст рослини – одні органи, частини рослини та тканини мають вплив на розташування і функціонування інших, що забезпечує злагоджений розвиток.

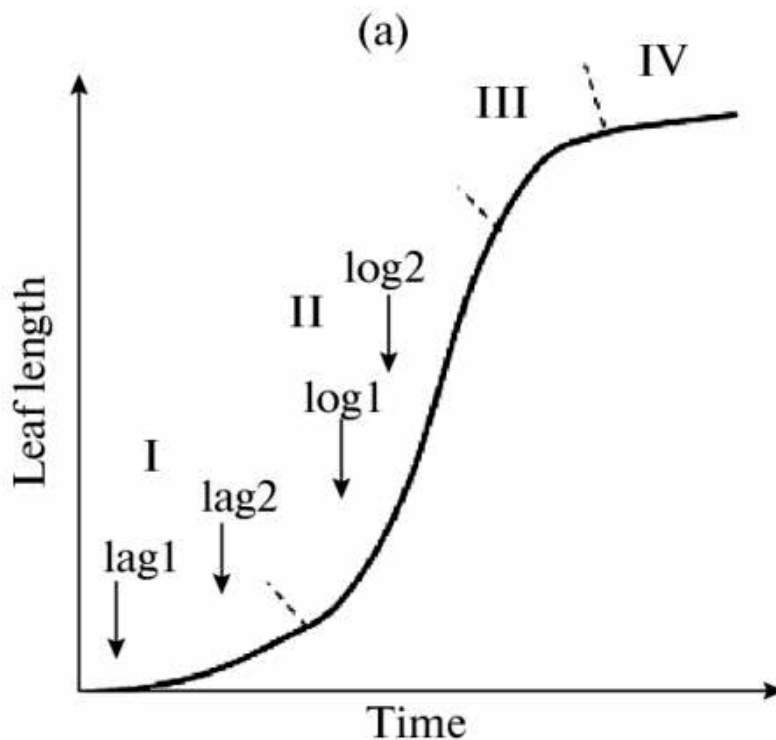


Рис. 3.2. Крива росту та її фази: I – латентна; II – логарифмічна; III – уповільнення; IV – стаціонарна, V – деградації

Рослини мають також наступні особливості розвитку:

1. Рослини ростуть впродовж всього онтогенезу. Тварини зростають тільки в періоди ембріогенезу і молодості, але як тільки досягають статевої зрілості, процес росту зупиняється;
2. Рослинний організм росте обмеженими зонами, які називаються меристеми (апикальні меристеми верхівки пагонів та кореня характеризуються постійним поділом клітин);
3. Ріст клітин рослин розтягуванням: вакуоля збільшується в розмірі, що призводить до розрихлення і наступного утворення компонентів клітинної стінки;
4. Тропізм рослин – дія зовнішніх чинників, до яких належать світло, вологість, сила тяжіння, викликають спрямовані рухи органів рослини у відповідь на дію фактора;
5. Унікальна здатність до регенерації – з певної частини рослини (орган, тканина, клітина) можна отримати цілісний організм (тотипотентність).

6. Розмноження вегетативним способом.

Ріст рослини характеризується збільшенням:

- сирії і сухої маси цілої рослини та її частин;
- кількості клітин;

- лінійних розмірів (довжина, висота, діаметр, об'єм рослини чи її частин). При цьому про ріст рослини свідчить одночасне поєднання кількох з вказаних ознак.

Ріст рослин має кілька типів:

- *апикальний (верхівковий) ріст* – лінійні розміри рослини збільшуються вздовж її осі за рахунок подовження верхівки апікальними меристемами кореня і стебла;
- *інтеркалярний ріст* – збільшення лінійного розміру певного органу рослини вздовж морфологічної осі за рахунок росту його середньої частини (міжвузля злакових рослин);
- *базальний ріст* – збільшення лінійного розміру певного органу рослини вздовж його морфологічної осі за рахунок базального (нижнього) кінця (черешок листка, бічні пагони);
- *радіальний ріст* – розміри органів збільшуються в напрямку перпендикулярному їх морфологічній осі за рахунок антиклінального поділу клітин (перегородка між двома дочірніми клітинами розташовується перпендикулярно поверхні органу рослини).
- *тангентальний ріст* – розміри органів рослини лінійно збільшуються в напрямку, перпендикулярному їх морфологічній осі (ріст в товщину) за рахунок периклінальних поділів клітин (перегородка між двома дочірніми клітинами розташовується паралельно поверхні органу – ріст стебла у товщину за рахунок камбію);

У розвитку рослини зазвичай виділяють такі етапи:

- ембріональний (розвиток зародка (зигота → зріле насіння), властивий насінневим рослинам);
- ювенільний (період накопичення вегетативної маси, що починається проростанням насіння або органів, що забезпечують вегетативне розмноження (бульба));
- етап зрілості і розмноження (період формування, росту і розвитку репродуктивних органів, утворення насіння та плодів);
- сенільний (період, в який припиняється плодоношення та завершується природною смертю рослини).

Ріст рослинної клітини має наступні фази:

- 1) ембріональна (поділ клітини);
- 2) розтягування;
- 3) диференціація.

Ембріональна фаза – відбувається в меристемі. У типовому клітинному циклі виділяють чотири послідовних етапів: пресинтетичний період (G 1), період синтезу ДНК (S), постсинтетичний період (G 2) і мітоз (рис. 3.3.).

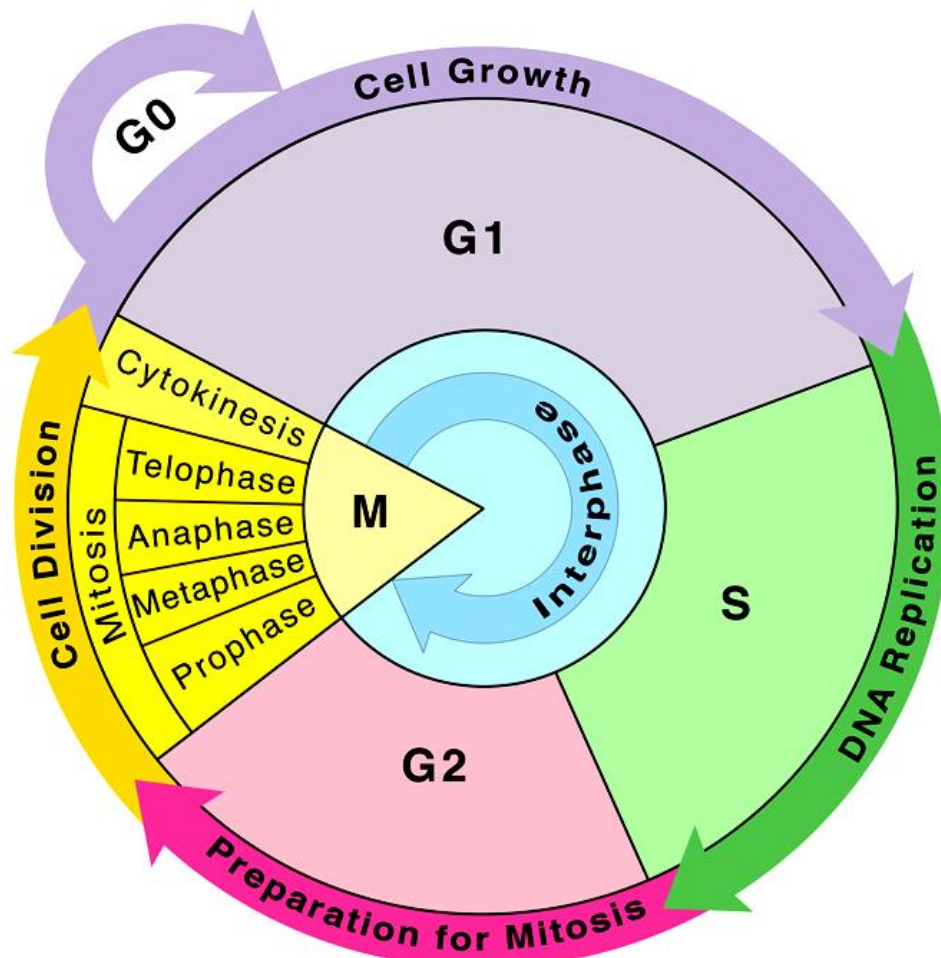


Рис. 3.3. Схема клітинного циклу: G1 та G2 – пресинтетичний і постсинтетичний період; S – синтетичний період; M – мітоз
<https://www.edumple.com/>

Ключовою точкою у фазі G1 і, відповідно, початком клітинного циклу є процес ініціації синтезу ДНК. Як тільки клітина проходить цю точку, процеси подвоєння ДНК, а також мітозу та цитокінезу стають незворотними. Лише після повного завершення мітозу можлива ініціація наступного клітинного циклу або перехід клітини до диференціювання. Дуже рідко спеціалізовані клітини виникають в результаті виходу з циклу поділу після реплікації ДНК, у G 2 -фазі.

Ріст розтягуванням має кілька етапів:

1. Підготовчий – у клітині, готовій до росту розтягуванням, відбувається уповільнення синтезу компонентів цитоплазми і утворення компонентів клітинної оболонки; зростає інтенсивність дихання, відбувається активне утворення фосфоліпідів, розширюються цистерни ендоплазматичного ретикулуму.

2. Власне розтягування – збільшення центральної вакуолі, розпушення та розтягнення клітинної стінки. Провідну роль у цьому процесі грає ауксин. Цей фітогормон викликає активацію локалізованої в плазматичній мембрані H^+ -АТФази та підкислення фази клітинних стінок, що призводить до активації ферментів типу кислих гідролаз. При цьому спостерігається розрив кислотолабільних зв'язків між окремими компонентами клітинної стінки, в

результаті відбувається утворення просвітів або осередків і зміщення вуглеводних шарів, тобто своєрідне розтягування вуглеводного каркасу.

3. «Фіксація» остаточних розмірів та форми клітини – відбувається відновлення розірваних хімічних зв'язків між молекулами целюлози та пектинів з утворенням та вбудовуванням новосинтезованих компонентів.

Диференціювання. Диференціювання може відбуватися за наступними типами:

Біохімічне диференціювання (передуює іншим) – виникають відмінності складу ензимів, синтезу запасних речовин чи вторинних метаболітів, що визначають особливості обміну речовин в клітині.

Анатомічне диференціювання – в клітині виникають морфологічні відмінності, такі як різна товщина і структура клітинної стінки, форма клітин, ступінь їх вакуолізації, особливості розвитку органел.

Фізіологічне диференціювання – утворення в клітинах відмінностей, які обумовлюють їх функціональні особливості.

Як результат диференціації клітин - їх структура і функції набувають певних особливостей, що визначають їх приналежність до певної спеціалізованої тканини.

Багато рослинних клітин після анатомічного диференціювання можуть починати ділитись, а процес втрати спеціалізації називається *дедиференціюванням*.

Однак у рослинах є глибоко спеціалізовані клітини, які не можуть дедиференціюватися. Це мертві клітини ксилеми, живі клітини ситовидних елементів, що не мають ядра, клітини механічних волокон та ін. Саме до них можна застосувати поняття термінального диференціювання – незворотного процесу, після якого клітина не може дедиференціюватися та реалізувати свою тотипотентність.

Старіння і загибель клітин. Саме старіння і відмирання є завершальним етапом онтогенезу клітин. В старіючих клітинах гідролітичні процеси переважають над процесами синтезу; вміст РНК, білків зменшується; збільшується проникність мембран, активність кислих протеаз, пероксидази; руйнуються хлоропласти, хлорофіл.

Старіння може розвиватися внаслідок:

- 1) накопичення пошкоджень в геномі, внутрішніх мембранах, збільшення в клітині вмісту токсичних речовин;
- 2) активація генетичної програми старіння як останнього етапу онтогенезу.

Процес старіння розвивається поступово. Особливістю рослин є те що впродовж онтогенезу постійно утворюються і ростуть нові клітини. Тому у дорослій рослині одночасно існують як юні клітини, так і старіючі.

Доля багатьох клітин, їх смерть генетично обумовлена і закодована в геномі та реалізується чітко в певний етап онтогенезу й називається *апоптозом*. Під впливом агресивних чинників довкілля (хімічні, фізичні впливи, патогени) відбувається раптова загибель рослинних клітин – *некроз*.

У рослин на клітинній мембрані є відповідні рецептори, які сприймають сигнали до апоптозу. Певну роль у запуску апоптозу відіграють арабіногалактанові білки, а основними регуляторами апоптозу в рослин є фітогормони. Рослинні клітини, що загинули апоптозом, на відміну від тваринних, не зникають, оскільки мають міцну клітинну стінку, а стають основою судинних пучків та аеренхіми.

Тема 3.2. Фітогормони, їх роль у регуляції росту і розвитку рослин

Ауксини. Ауксини були відкриті першими серед рослинних гормонів на початку ХХ ст. голландським дослідником Ф. Вентом (1928). Проте слід зазначити, що перші припущення щодо існування у рослин речовин, які стимулюють ріст і розвиток, висунув Ч. Дарвін у 1880 р.

Індоліл-3-оцтову кислоту (ІОК) та її похідні виявляють у всіх органах рослин, зокрема найбільший її вміст реєструють у бруньках, насінні, що розвивається, пилку, камбії в активному стані.

За хімічною структурою природні ауксини поділяють на ті, що містять систему кілець індолу, і ауксини без індольних кілець (рис.3.4.).

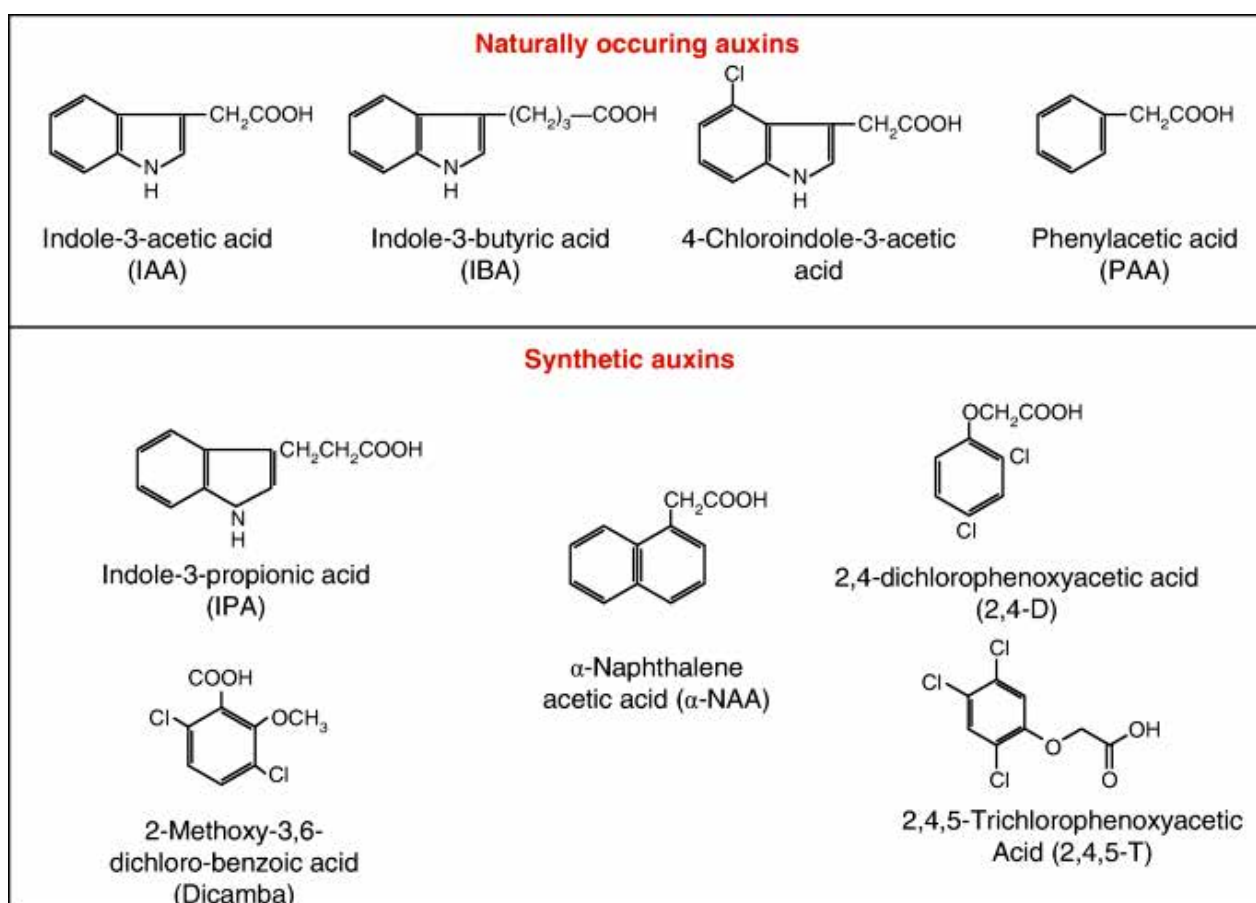


Рис. 3.4. Хімічна структура ауксинів

<https://link.springer.com/>

Крім індоліл-3-оцтової кислоти в рослинних тканинах виявлено інші сполуки індольної природи, що володіють ауксиною активністю (4-хлоріндоліл-3-оцтова кислота, індоліл-3-ацетальдегід, індоліл-3-ацетонітрил,

індоліл-3-піровиноградна кислота). Поряд з ауксинами індольної природи в рослинах, зустрічаються також ауксиноактивні сполуки іншої хімічної структури (фенілоцтова кислота, фенілацетамід, β -ситостерол, кампестерол та інші рослинні стероли).

Крім вільної індоліл-3-оцтової кислоти в тканинах рослин присутні інші її форми:

- низькомолекулярні комплекси (кон'югати з глюкозою, міоїнозитом, аспаратом, глутаматом);
- високомолекулярні комплекси (ІОК-глюкани та ІОК-глікопротеїни).

Вміст зв'язаної індоліл-3-оцтової кислоти переважно перевищує кількість вільного ауксину. У зв'язаній формі інактивуються надлишки ІОК, створюються запаси, також таким чином створюється захист при її транспортуванні.

Метаболізм. У вищих рослин індоліл-3-оцтова кислота синтезується переважно апікальною меристемою головного пагона з амінокислоти триптофану. У більшості рослин біосинтез ІОК відбувається в 3 етапи:

1) дезамінування – триптофан під дією трансамінази перетворюється на індоліл-3-піруват;

2) декарбоксилювання індолілпірувату до індоліл-3-ацетальдегіду – каталізується декарбоксилазою α -кетокислоти;

3) окиснення індоліл-3-ацетальдегіду до індоліл-3-оцтової кислоти під дією альдегіддегідрогенази (рис. 3.5.).

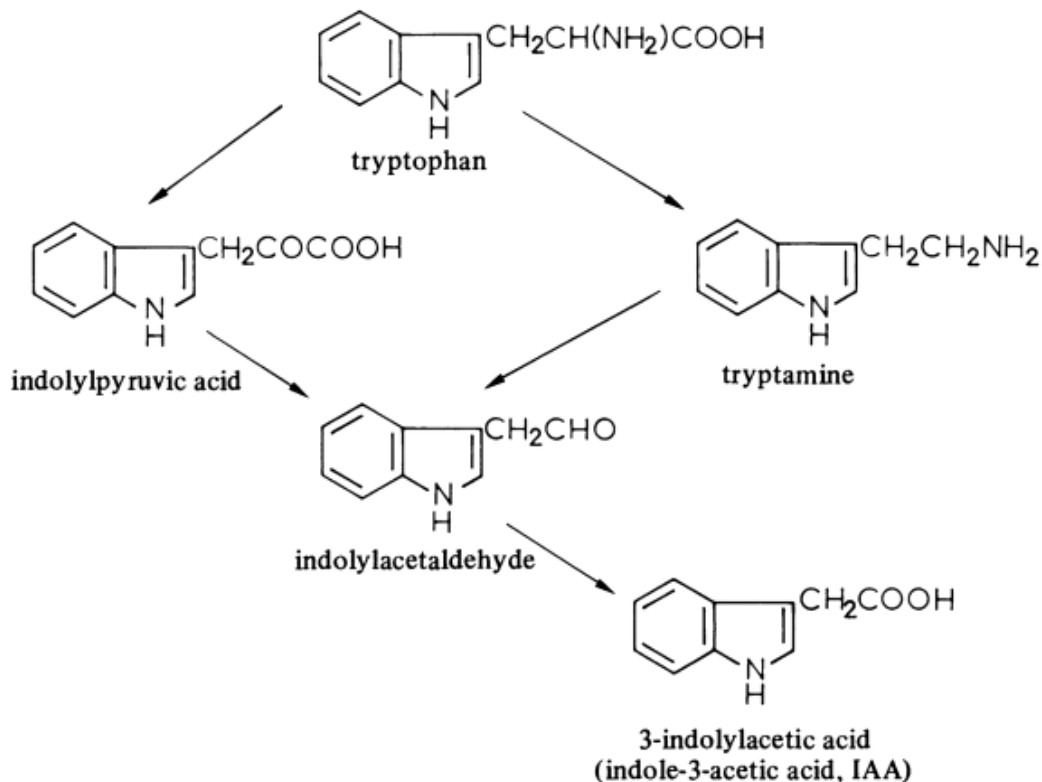


Рис. 3.5. Біосинтез індоліл-3-оцтової кислоти

<https://www.chemicalbook.com/>

Інактивація індоліл-3-оцтової кислоти відбувається шляхом окиснення або утворення зв'язаних форм. Окисне руйнування індоліл-3-оцтової кислоти може відбуватися за участю та без участі ензимів. При цьому, ферментативне окиснення може бути специфічним (ІОК-оксидаза) чи неспецифічним (поліфенолоксидаза). Окиснення індоліл-3-оцтової кислоти без ферментів може здійснюватися ультрафіолетовими променями.

Транспортування ауксину по рослині характеризується чіткою полярністю. У пагонах він переміщається в напрямку від верхівки до основи, а в корені, навпаки, від основи до кінчика. Такий транспорт відбувається активно, живими клітинами паренхіми провідних пучків, і має швидкість в середньому 10–15 мм/год. Механізм транспорту є наступним: ІОК проникає в клітину по градієнту концентрації в вигляді нейтральної частинки, оскільки, як слабка кислота, знаходиться у слабкокислому середовищі апопласту в здебільшого в недисоційованій формі.

У цитоплазмі, рН якої зазвичай має слабколужне значення, ІОК дисоціює і стає негативно зарядженим іоном. Аніони ІОК не можуть вільно дифундувати через плазмалему, тому вихід ІОК з клітини є активним процесом, в якому беруть участь трансмембранні переносники. Ці переносники розміщуються в нижній частині клітини, що і забезпечує спрямований рух. При зміні зовнішніх факторів, наприклад, освітлення, ці переносники можуть швидко пересуватися на затінений бік, що імовірно обумовлене їх взаємозв'язком з елементами цитоскелету.

Фізіологічна роль індоліл-3-оцтової кислоти обумовлена її різноманітними фізіологічними ефектами:

Ріст клітин розтягуванням. Ріст розтягуванням у відрізків колеоптилів або стебел використовують як своєрідний тест на ауксинову активність.

Розподіл клітин. Ауксини викликають стимуляцію поділу клітин, а саме є необхідними для переходу клітини з фази G1 в S-фазу клітинного циклу та стимулюють синтез ДНК, РНК, білка.

Апікальне домінування. Ауксини забезпечують апікальне домінування, тому видалення верхівки пагона приводить до активації росту бічних пагонів.

Ризогенез. Ауксини стимулюють утворення придаткових коренів на стеблі і бічних коренів, що використовують для укорінення живців.

Диференціація провідних елементів ксилеми. Під дією ауксину формуються провідні тканини, переважно ксилема.

Тропізми. Регульований ауксином процес розтягування клітин важливий не тільки для зростання колеоптилів і пагонів проростків, але і для орієнтації їх по відношенню до світла (фототропізм) та до сили тяжіння (геотропізм). Накопичення ауксинів на затінений стороні стебла призводить до того, що клітини в цій області подовжуються з більшою швидкістю, ніж клітини на протилежній стороні стебла. В результаті стебло вигинається в сторону від накопичених ауксинів і в бік світла (рис. 3.6.). Стебла та листя рослин демонструють позитивний фототропізм, тоді як коріння (здебільшого під впливом сили тяжіння) мають тенденцію демонструвати негативний фототропізм.

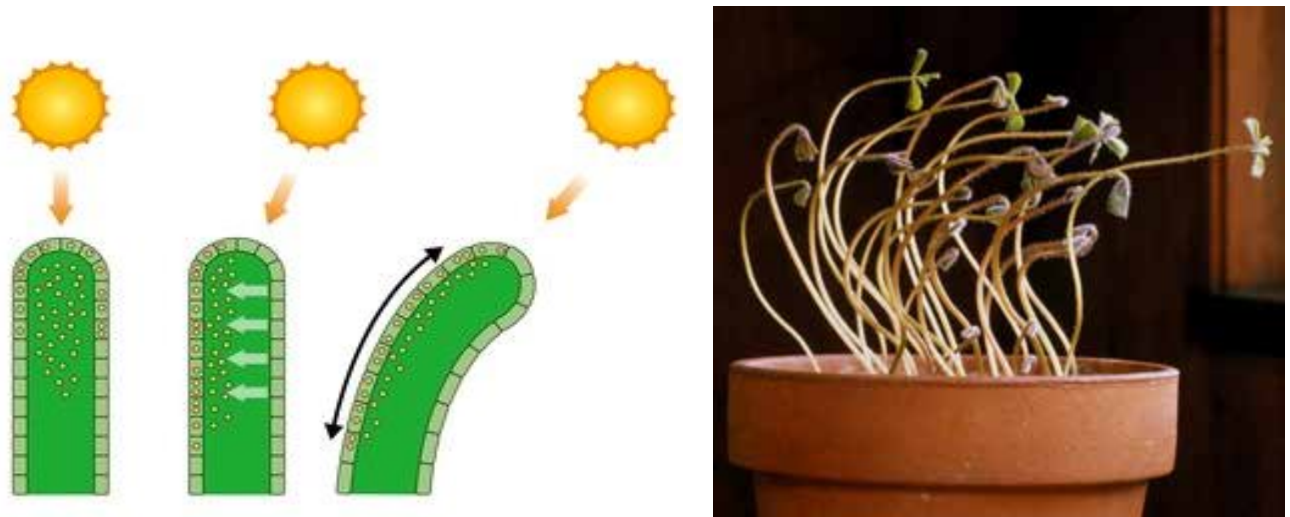


Рис. 3.6. Фототропізм регульований ауксином
<https://www.thoughtco.com/> <https://www.shutterstock.com/>

Стимуляція зростання безнасінних плодів. При обробці безнасінних плодів розчином ауксину посилюється приплив до них поживних речовин, сприяючи розростанню навколоплідника.

Індукція утворення етилену. У високих концентраціях ауксину стимулюють синтез гормону-антагоніста – етилену.

Цитокініни. Цитокініни отримали свою назву зважаючи на їх здатність стимулювати цитокінез (клітинний поділ). Цитокініни в найбільшій кількості знаходяться в насінні, що розвивається, плодах та меристемно активних ділянках.

Хімічна структура. Усі природні цитокініни є похідними аденіну, у якого аміногрупа у шостому положенні заміщена різними радикалами. Зеатин, вперше виділений з кукурудзи, є основною формою цитокінінів в рослинних тканинах. Він може бути представлений в двох формах: цис- і транс-, які взаємоперетворюються одна на одну під дією ферменту зеатинізомерази (рис. 3.7.).

Вищою біологічною активністю характеризується транс-зеатин, однак і цис-зеатин може виконувати певну фізіологічну роль. Серед інших найважливіших природних цитокінінів слід назвати ізопентеніладенін та дигідрозеатин. У складі тРНК виявлені нуклеотиди, які мають цитокінінову активність. Незначною цитокініноподібною дією володіє також дифенілсечовина, проте вона не має в своїй структурі аденінової системи кілець. В клітинах зустрічаються вільна і зв'язана форма цитокінінів.

Natural CKs

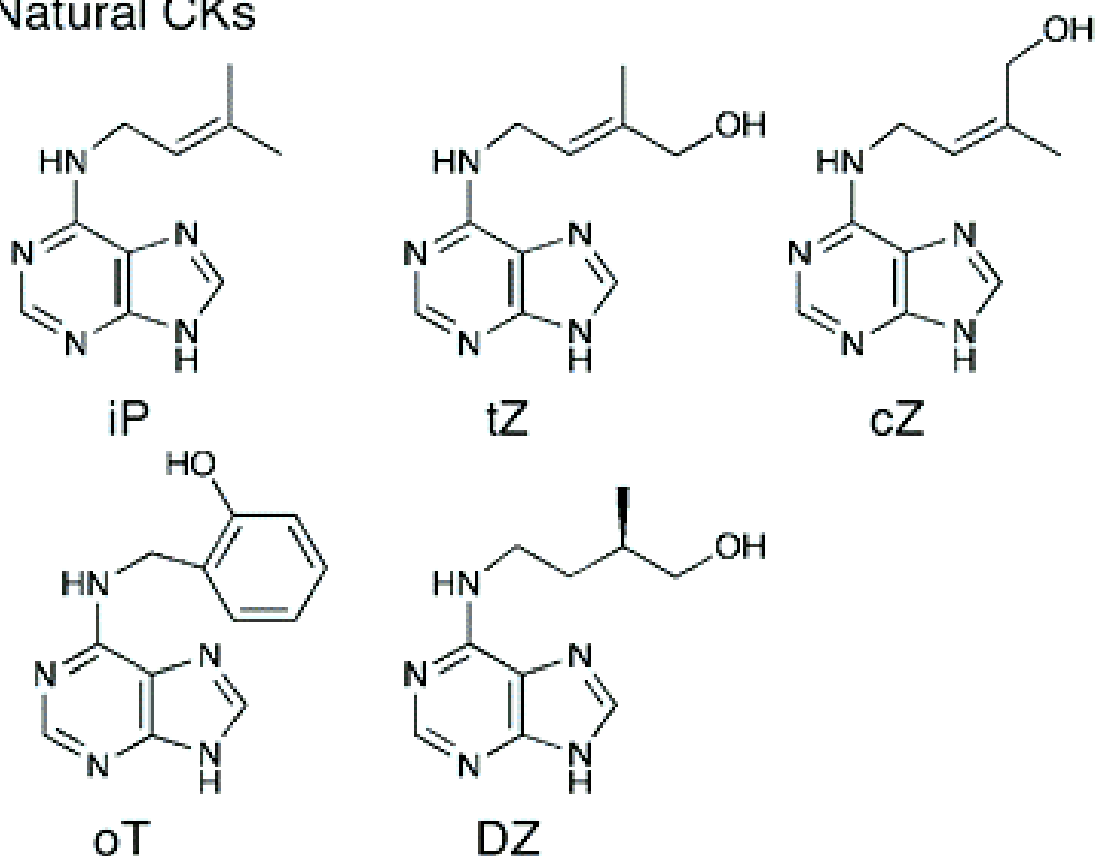


Рис. 3.7. Будова цитокінінів: транс- зеатин (tZ), цис-зеатин (cZ), дигідрозеатин (DZ) і орто-тополін (oT)

<https://bmcbiol.biomedcentral.com/>

Метаболізм. Основним місцем, де синтезуються цитокініни вегетуючою рослиною, є апікальні меристеми коренів. Вони синтезуються з аденіну, що належить до азотистих основ, до якого приєднується група ізопентенілу з формуванням цитокінінового скелету. Унікальним ферментом синтезу цитокініну є цитокінінсинтаза (ізопентенілтрансфераза), що каталізує перенесення ізопентенільної групи від ізопентенілпірофосфату на аденозинмонофосфат. в подальшому послідовно відщеплюються фосфатна група і рибоза. Самий простий з цитокінінів – ізопентеніладенін. Інші цитокініни утворюються за рахунок модифікації ізопентенільного фрагменту (гідроксилювання, окиснення, відновлення).

Руйнування цитокінінів здійснює фермент цитокінінооксидаза, який перетворює зеатин, зеатинрибозид і ізопентеніладенін на аденін або його похідні. Аденін може окиснюватися ксантинооксидазою до сечової кислоти.

Транспорт. У рослині цитокінін транспортується в акропетальному напрямку з ксилемним током. На відміну від ауксинів, цитокініни транспортуються пасивно та неполярно (рис. 3.8.).

Фізіологічні ефекти. Цитокініни стимулюють поділ клітин, проте цей ефект реалізується в присутності ауксину; стимулюють реплікацію ДНК; регулюють переходи з фази G 1 в S та з G 2 в фазу мітозу.

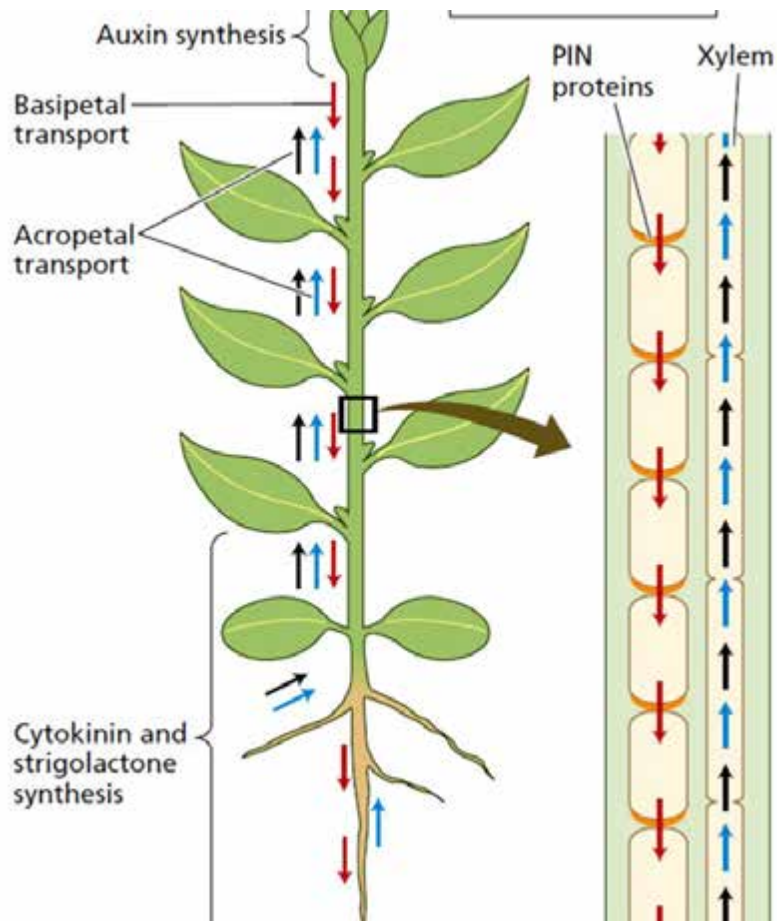


Рис. 3.8. Транспорт цитокінінів
<https://triyambak.org/>

Активация роста сім'ядолей у дводольних рослин за рахунок розтягування клітин.

Регуляція процесів морфогенезу у культурі тканин – за підвищених концентрацій цитокінінів стимулюється утворення пагонів.

Затримка старіння листя:

Запобігання старіння рослинних тканин – цитокініни запобігають розпаду хлорофілу та деградації внутрішньоклітинних структур у ізольованих листках.

Зняття апікального домінування (викликаного ауксинами): бічні бруньки, оброблені цитокініном, розпускаються навіть у рослин з вираженим апікальним домінуванням, зокрема, у соняшнику.

Пригнічення росту бічних коренів:

Стимуляція зростання безнасінних плодів.

Утворення провідних тканин. У зоні диференціювання кореня цитокініни сприяють утворенню переважно елементів флоєми.

Стимуляція проростання насіння. Природне закінчення спокою насіння у переважній більшості пов'язане з підвищенням рівня цитокінінів, що індукують проростання. Цитокініни також здатні переривати спокій сплячих бруньок, бульб.

Регуляція цвітіння та формування статі у рослин. Цитокініни впливають на закладку та розвиток генеративних органів у рослин, прискорюють

зацвітання. У процесі диференціювання генеративних органів цитокініни взаємодіють з гіберелінами та забезпечують формування статі у квітці. Вони сприяють формуванню жіночих квіток у коноплі, шпинаті, огірках, кукурудзі.

Цитокініни активують *відкривання продихів*.

Гібереліни. Це найбільший клас рослинних гормонів. На даний час їх відомо понад 100, багато з яких не мають фізіологічної активності у рослинах. Оскільки більшість із гіберелінів – кислоти, їх прийнято позначати як гіберелова кислота з відповідним індексом, котрий присвоюється кожній новій сполуці по мірі відкриття та ідентифікації (рис. 3.9.). У вищих рослин найбагатші гіберелінами незріле і проростаюче насіння, молоді листки, меристемні тканини пагонів, апікальні зони коренів, молоді плоди.

Хімічна структура. Гібереліни представляють собою тетрациклічні дитерпенові кислоти. Їх молекули складаються з чотирьох ізопренових залишків, які зазвичай утворюють чотири кільця – А, В, С та D. За кількістю вуглецевих атомів у молекулі гібереліни поділяються на дві групи. Біля половини з них містять 20 вуглецевих атомів, що властиво дитерпенам, і відносяться до C₂₀-гіберелінів (ент-гібереланів), інша половина втрачає один атом вуглецю і відноситься до C₁₉-гіберелінів (рис. 3.9.).

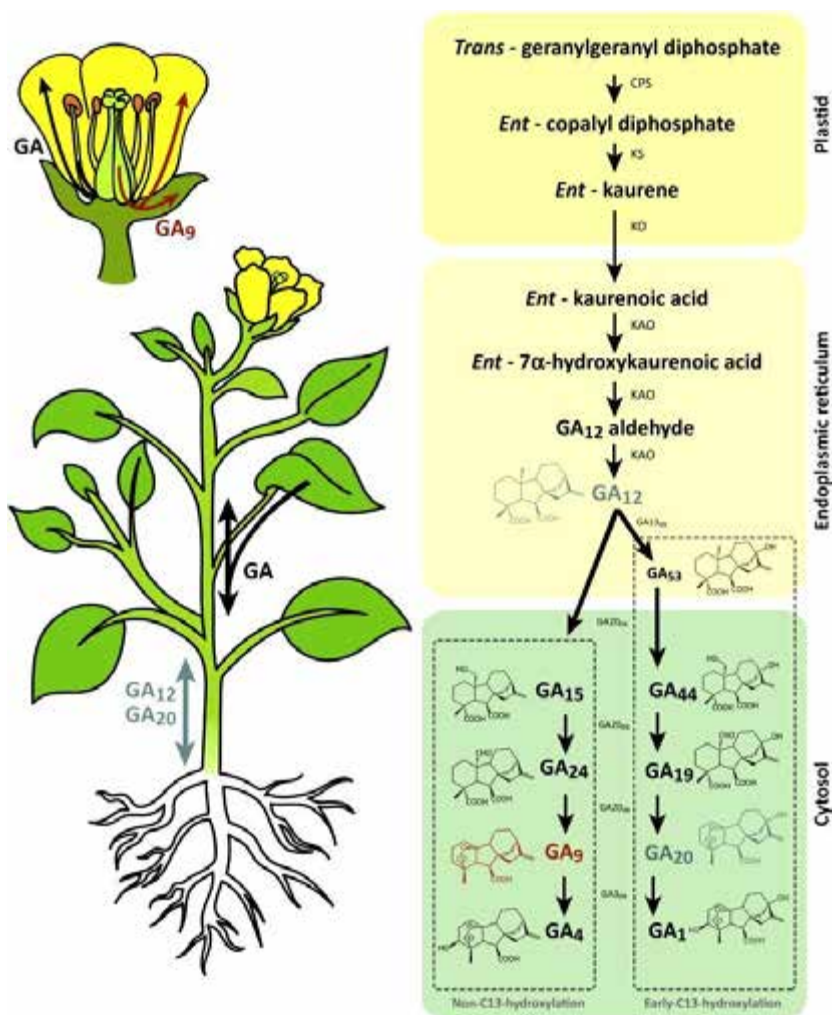


Рис. 3.9. Синтез, будова і транспорт гіберелінів
<https://www.cell.com/trends/plant-science/>

У свою чергу, C₁₉ і C₂₀ гібереліни можуть бути представлені моно-, ди- і трикарбоновими кислотами. Основними варіаціями в структурі гіберелінів також є наявність або відсутність ненасиченою зв'язку в кільці А, число і розташування гідроксильних груп.

У рослинах гібереліни можуть знаходитися не тільки у вільній, але і в зв'язаній формах (глікозидів, глюкозилефірів й ін.). Особливо багато зв'язаних форм гіберелінів у насінні.

Метаболізм. Основне місце синтезу гіберелінів – молоді листки. Синтезуються вони, як і всі ізопренові сполуки, з ацетил-КоА через мевалонову кислоту і геранілгераніол. Безпосереднім попередником гіберелінів є енткаурен.

Синтез гібереліну йде в три етапи:

1) Утворення енткаурену. Циклази, каталізуючі цей процес, присутні лише у пропластидах меристематичних тканин пагонів. Енткаурен залишає пластиду та подальший синтез йде в ЕПР та цитозолі.

2) Окислення енткаурену до ГК12 – альдегіду за участю монооксигеназ, локалізованих в ЕПР.

3) Окислення ГК12 – альдегіду з утворенням першого гібереліну – ГК12, а потім й інших гіберелінів. Більшість реакцій завершальної стадії відбуваються в цитоплазмі й пов'язані з процесами гідроксилування, каталізуються різними розчинними діоксигеназами.

Біосинтез гіберелінів контролюється багатьма чинниками. Утворення активних гіберелінів залежить від довжини дня, спектрального складу світла, рівня ауксинів. Карликовість може бути подолана введенням гіберелінів.

Інактивація гіберелінів, як і більшості рослинних гормонів, може здійснюватися за рахунок утворення зв'язаних форм. Крім того, в рослинах існують специфічні оксидази, які незворотно переводять гібереліни в неактивні сполуки. Екзогенні гібереліни порівняно довго залишаються активними при введенні в рослинні тканини на відміну від ауксинів.

Транспорт. Пересування гіберелінів по рослині здійснюється пасивно. Вони транспортуються як по ксилемі, так і по флоемі, що було показано у досліді з міченою гібереліною кислотою.

Фізіологічні ефекти:

Подовження стебла. Це найхарактерніший ефект, котрий гібереліни викликають у рослинах.

Переривання спокою насіння. Один з самих ранніх ефектів, викликаних гіберелінами – це мобілізація запасних поживних речовин при проростанні насіння. Обробка гібереліном може викликати припинення спокою і у інших органів, наприклад, бруньок.

Стимуляція утворення партенокарпічних плодів. Гібереліни стимулюють розростання зав'язей, що приводить до утворення партенокарпічних плодів. На відміну від ауксину гібереліни здатні викликати партенокарпію у кісточкових.

Стимуляція цвітіння. Гібереліни індукує цвітіння рослин довгого дня. Для вегетативної фази таких рослин, як правило, характерний розетковий ріст,

тобто укорочене стебло, а перехід до генеративної фази супроводжується сильним зростанням осьових пагонів (стрілкування).

Прояв статі у рослин. З допомогою гібереліну можливо викликати зміну статі у рослин, при цьому результат залежить від виду і генетичної лінії.

Гальмування старіння. У деяких випадках гіберелова кислота здатна затримувати старіння листя та плодів.

Абсцизова кислота. Спостереження за процесами розвитку рослин привели дослідників до висновку, що, крім гормонів-активаторів (ауксини, гібереліни і цитокініни), в рослинному організмі повинні існувати речовини, що відповідають за гальмування процесів росту. Абсцизова кислота (АБК) є саме таким гормоном.

Покритонасінні, голонасінні рослини, а також папороті, хвоці і мохи, містять абсцизову кислоту. Особливо багато абсцизової кислоти міститься в старих листках, зрілих плодах, бруньках в стані спокою і насінні.

Хімічна структура. Абсцизова кислота належить до сесквітерпенів (C₁₅). Абсцизова кислота має дві стереоізомерні форми: (+) або правообертальну і (-) або лівообертальну. Синтетична абсцизова кислота представляє собою рацемічну суміш їх рівних кількостей. Вивчення біологічної активності рацемату показало, що інгібуюча активність право- (+) і лівообертальної (-) форм однакова, однак в рослинних тканинах присутній переважно (+) АБК (рис. 3.10.).

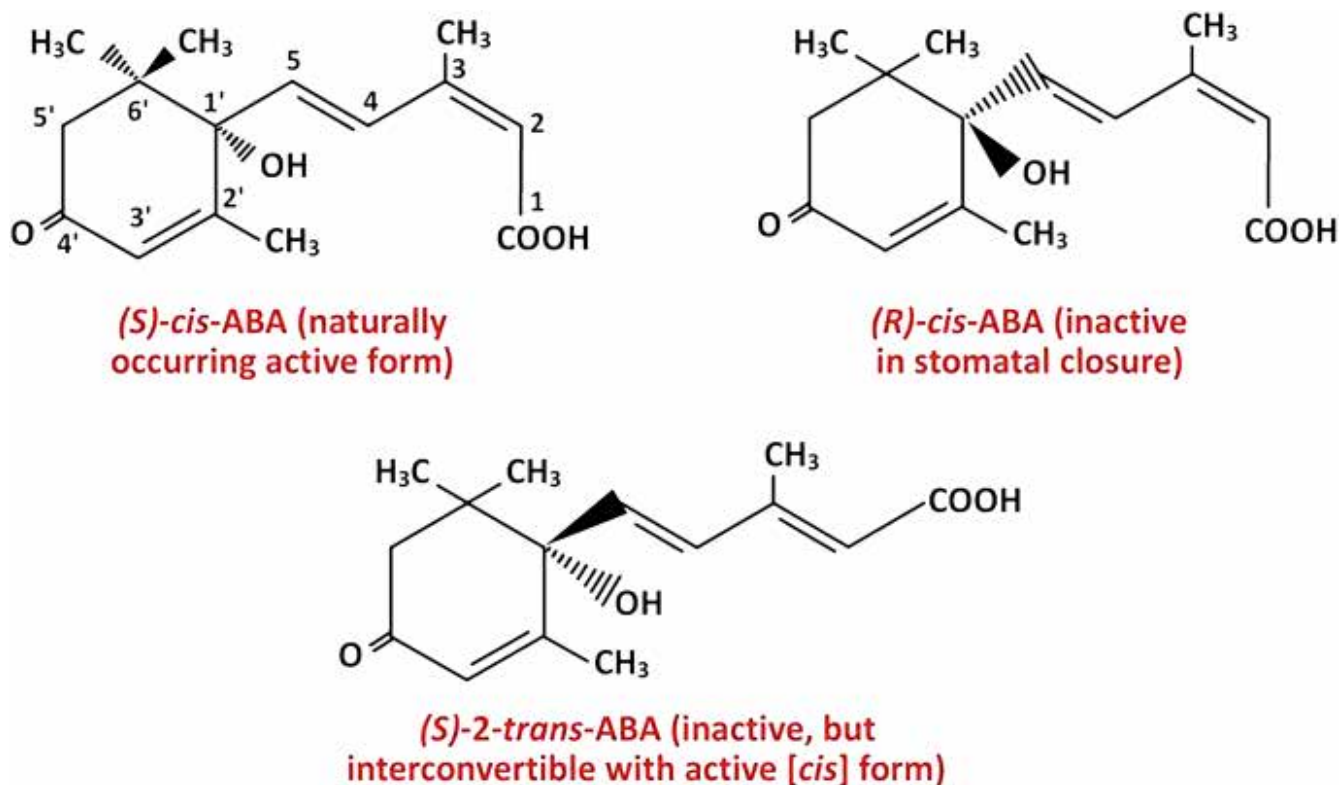


Рис. 3.10. Будова абсцизової кислоти

<https://link.springer.com/>

Для абсцизової кислоти характерною є не лише оптична, а і геометрична ізомерія. Для природної її форми властиві 2-цис, 4-транс-конфігурація бічного

ланцюга, і саме така форма має назву абсцизова кислота. Під впливом світла (видиме, ультрафіолетове) вказана ізоформа неферментативно перетворюється в так звану 2-транс-форму, яка є в біологічному значенні малоактивною. При цьому слід зазначити, що процес перетворення є незворотнім.

У рослинах знайдено зв'язану форму абсцизової кислоти, що являє собою її етер з D-глюкозою (абсцизил-β-D-глюкопіранозид). Він має вдвічі меншу біологічну активність, ніж абсцизова кислота.

До природних сполук, які виявляють подібну з абсцизовою кислотою біологічну активність (піретрозин, ксантоксин). Піретрозин є цитотоксичним, пригнічує ріст розтягуванням колеоптилю пшениці, володіє антиканцерогенними властивостями.

Метаболізм. АБК синтезується в листі, кореневому чохлаку. Перші етапи її біосинтезу пов'язані з віолаксантиновим циклом і протікають в хлоропластах (рис. 3.11.).

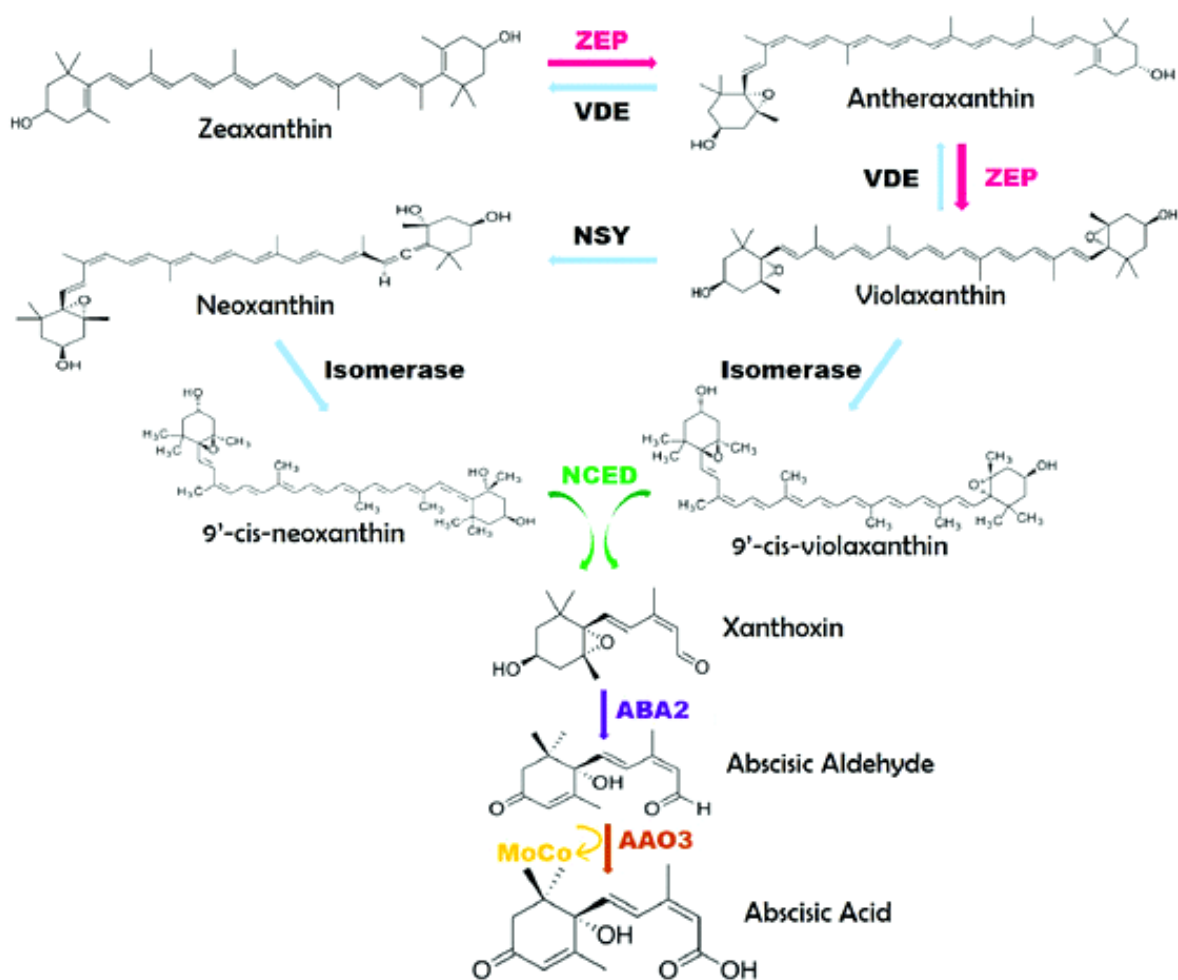


Рис. 3.11. Шлях біосинтезу абсцизової кислоти
<https://www.researchgate.net/>

Утворений транс-віолаксантин в кінцевому результаті розщеплюється на два нерівних фрагмента: C₁₅ (ксантоксин) і C₂₅. C₂₅ – фрагмент швидко деградує, а ксантоксин у цитоплазмі перетворюється на абсцизовий альдегід.

На останньому етапі синтезу цього фітогормону використовується молібденвмісний ензим, який активує утворення з абсцизового альдегіду абсцизової кислоти. Молібденвмісний кофактор у цього ферменту загальний з нітратредуктазою і ксантиндегідрогеназою. За мутацій, що впливають на синтез цього кофактора, спостерігається плейотропний ефект: рослина не може відновлювати нітрат і не утворює абсцизову кислоту з альдегіду.

Абсцизова кислота інактивується гідроксилюванням, яке відбувається в ендоплазматичному ретикулумі.

Транспорт. У різних органах рослини спостерігається як базипетальний, так та акропетальний транспорт абсцизової кислоти. Інгібування транспорту абсцизової кислоти відбувається внаслідок анаеробіозу, дії низької температури. Екзогенна АБК швидко проникає в тканини та вільно поширюється по рослині у всіх напрямках.

Фізіологічні ефекти:

Пригнічення ростових процесів в рослинах. Абсцизова кислота є антагоністом ауксинів, гіберелінів та цитокінінів.

Підтримка спокою насіння: АБК пригнічує ріст бруньок, проростання насіння, тому здатна накопичуватись в них під час переходу в стан спокою, який має дуже важливе фізіологічне значення для рослин, оскільки дозволяє їм пережити несприятливі умови середовища.

Участь в механізмах стресу: абсцизову кислоту нерідко називають гормоном осмотичного стресу, оскільки її концентрація сильно змінюється при водному дефіциті, засоленні і охолодженні. При виникненні водного дефіциту в ґрунті активується синтез абсцизової кислоти в коренях і підвищується її вміст у ксилемі. Це служить рослині сигналом, який призводить до закривання продихів і зниження транспірації.

Опадання листя, квіток і плодів. Абсцизова кислота стимулює опадання сім'ядолей, листя у бавовнику, а також квіток та зрілих плодів у винограду, маслин, цитрусових та яблук (антиауксинова дія). Однак показано, що абсцизова кислота відповідає за опадання листя тільки при посусі.

Етилен. Етилен є багатофункціональним фітогормон, який регулює як ріст, так і старіння. Він сприяє або пригнічує процеси росту та старіння залежно від концентрації, часу застосування та виду рослини. Це єдиний фітогормон, який за своєю природою є газом.

Метаболізм. Найбільша швидкість утворення етилену спостерігається в старіючому листі та дозріваючих плодах. Його синтез починається з амінокислоти метіоніну. Внаслідок його взаємодії з АТФ утворюється S-аденозилметіонін, котрий перетворюється в 1-аміно-циклопропан-1-карбонову кислоту (АЦК) з допомогою АЦК-синтази (рис. 3.12.).

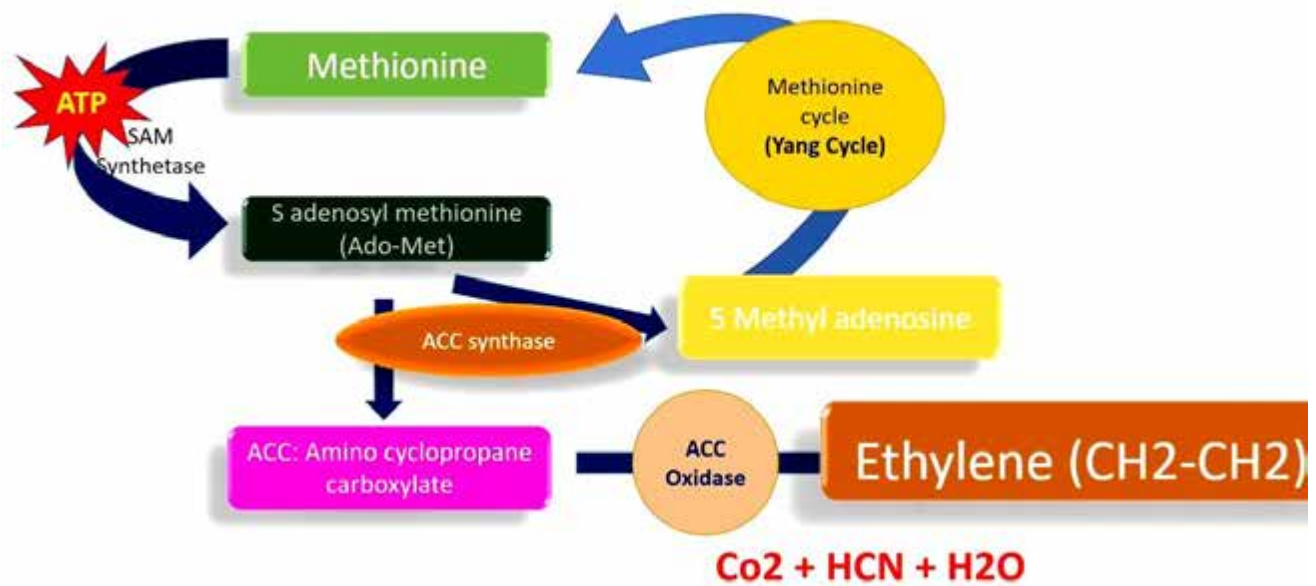


Рис.3.12. Шлях біосинтезу етилену

<https://www.youtube.com/>

АЦК можна, можливо розглядати як неактивну транспортну форму етилену, а кількість утвореного етилену залежить від експресії гену АЦК-синтази. Гени, що контролюють синтез АЦК-синтази, активуються при різних стресових впливах (механічне пошкодження, різкі коливання температури, посуха, анаеробіоз), а також гормональними сигналами (ауксин та сам етилен). Руйнування АЦК з утворенням етилену є ферментативним процесом. Цей етап вимагає наявності кисню і каталізується ферментом АЦК-оксидазою. Однак на етилен перетворюється не вся АЦК, частина її може утворювати дуже стійку кон'юговану форму - N-малоніл-АЦК. Джерелом поповнення запасів метіоніну в клітинах є цикл Янга, в ході якого СН₃ – S-група, що залишається від метіоніну після синтезу АЦК, знову використовується для його утворення. Етилен легко окислюється до етиленгліколю.

Фізіологічні ефекти.

Участь у формуванні і дозріванні плодів. Властивість прискорювати дозрівання плодів було виявлено в етилену ще в 20-ті роки минулого століття і з того часу його широко використовують.

Уповільнення подовження стебла. Добре вивченою фізіологічною реакцією рослин на етилен є «потрійний ефект»: уповільнення зростання в довжину стебла, його потовщення та горизонтальне зростання. Ці реакції властиві всім дводольним рослинам, а також колеоптилям і мезокотиллям злаків.

Регуляція проростання насіння – внаслідок збільшення концентрації етилену, стимулюється проростання.

Індуція епінастії – опускання листя внаслідок більшої швидкості росту клітин на верхньому боці черешка, порівняно з нижньою. Епінастичний рух листя спостерігається також при затопленні.

Активация старіння листків та квіток. Етилен стимулює старіння листя, а цитокініни, навпаки затримують його. Крім листя, етилен також прискорює

старіння квіток та плодолистиків. Якщо ж квітки обробити інгібіторами синтезу етилену, їх цвітіння буде відбуватися більш тривалий час.

Регулювання формування статі. Обробка етиленом також здатна впливати на формування статі у дводомних рослин, стимулюючи, наприклад, в огірків утворення більшого числа жіночих квітів.

Опадання листків. Процес опадання листя визначається співвідношенням у тканинах двох гормонів – етилену та ауксину. У міру старіння листків вміст етилену зростає, а інтенсивність транспорту та градієнт концентрації ІОК знижуються, що підвищує чутливість клітин-мішеней зони відділення до етилену.

Стійкість до фітопатогенів. У відповідь на використання фітопатогенів в листі багатьох рослин починається синтез захисних речовин, індукований етиленом. До них відносяться інгібітори протеїназ, які при потраплянні в шлунок теплокровних або комах викликають сильні порушення травлення. Під дією етилену рослини можуть виробляти фітогемаглютини (володіють властивістю склеювати еритроцити крові тварин, що їх поїдають). Внаслідок проникнення інфекційних патогенів у рослинну клітину розвивається так звана реакція надчутливості. Уражена патогеном клітина інактивує захисні механізми щодо активних форм кисню, утворюється дуже багато перекисів, супероксид-аніонів і інших вільних радикалів, що приводить до загибелі клітини, а також і патогену. В цьому механізмі захисту задіяні саліцилова, жасмонова кислоти, які синтезуються за впливу етилену.

Утворення аеренхіми і придаткових коренів. Етилен викликає утворення аеренхіми і придаткових коренів у злаків при затопленні рослин, що допомагає перенести їм дефіцит кисню.

Регуляція росту коренів. Етилен гальмує ріст головного і стимулює утворення бічних коренів.

Брасиностероїди.

Брасиностероїди – речовини стероїдної природи, що володіють ростостимулюючою активністю у рослин, вперше виділені у 1979 р. Для отримання всього лише 4 мг такої речовини, названої брасинолідом, довелося зібрати близько 10 кг пилку ріпаку.

Нині виявлено понад 60 сполук стероїдної природи, що володіють подібною біологічною активністю і мають загальну назву брасиностероїди. Концентрація брасиностероїдів найвища у молодих тканинах (етіольованих проростках, меристемах, флоральних примордіях), а також пилку, що розвивається.

Метаболізм. Біосинтез брасиностероїдів йде по мевалонатному шляху і включає спільні з іншими терпеновими сполуками (гіберелінами, абсцизовою кислотою) стадії. Біосинтез брасиностероїдів починається з 24-метилхолестеролу, з якого утворюється кампестерин і кампестанол. Останній перетворюється на брасинолід – фізіологічно активний брасиностероїд (рис. 3.13).

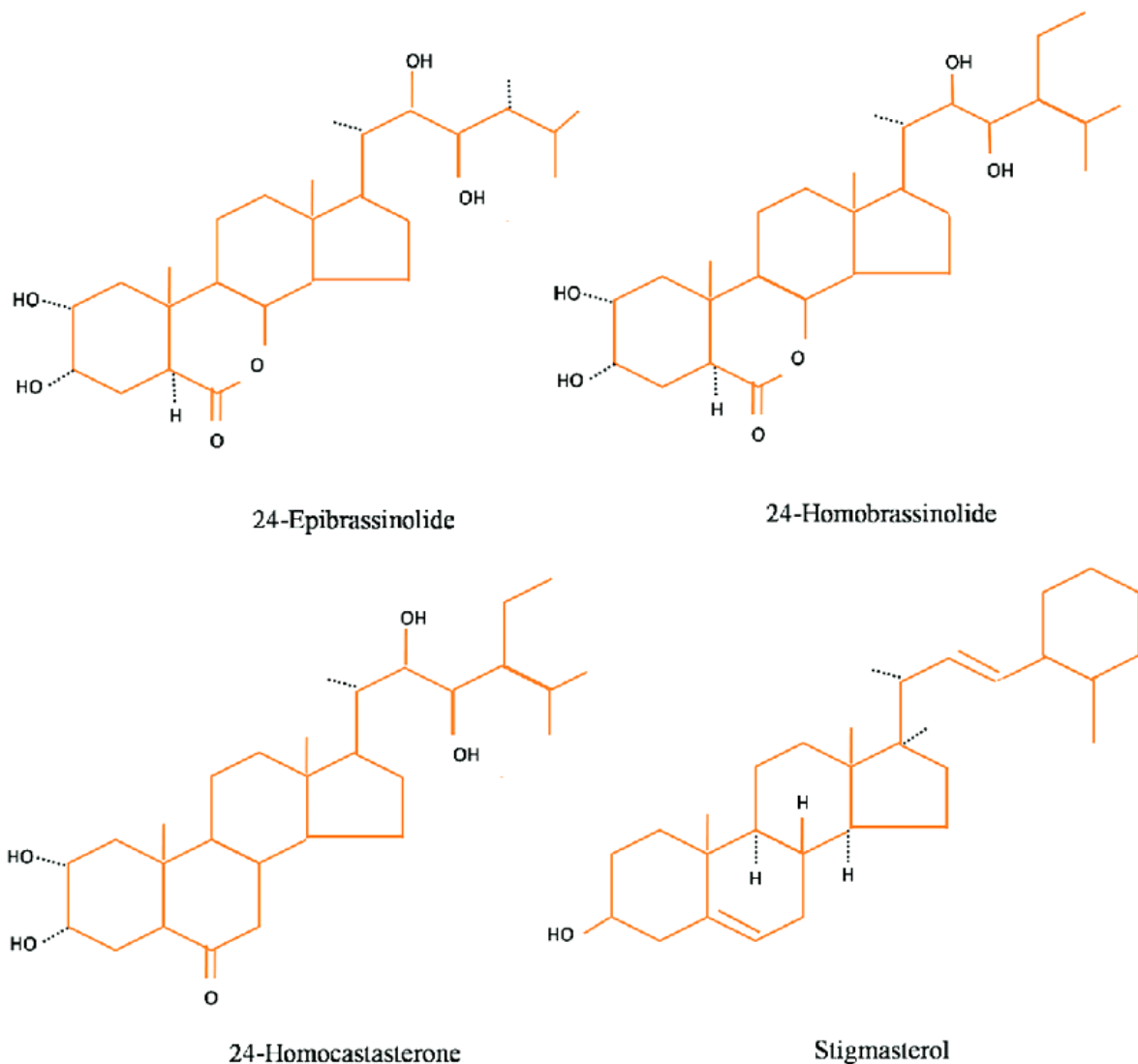


Рис. 3.13. Будова основних брасиностероїдів

<https://www.researchgate.net/>

Транспорт. За своєю природою брасиностероїди є високогідрофобними молекулами, проте існують і гідрофільні глікозиди, сульфати та ацилпохідні брасиностероїдів. Саме у гідрофільній формі брасиностероїди транспортуються по рослині.

Фізіологічні ефекти.

Стимуляція зростання розтягуванням. Стимулююча дія брасиностероїдів на ростові процеси пов'язана з активацією поділу клітин та їх розтягування.

Регуляція процесів клітинного диференціювання. Брасиностероїди регулюють процеси клітинного диференціювання. Поряд з ауксинами, брасиностероїди необхідні для запуску синтезу ферментів, що беруть участь у лігніфікації клітинних стінок при утворенні елементів ксилеми.

Інгібування утворення бічних коренів. Дія на кореневу систему брасиностероїдів і ауксинів помітно відрізняється: якщо ауксини стимулюють утворення бічних коренів, то брасиностероїди інгібують їх утворення.

Участь в процесах фотоморфогенезу. Вважають, що брасиностероїди виконують функцію репресорів світлозалежних генів морфогенезу.

Забезпечення стресостійкості рослин. Екзогенна обробка брасиностероїдами впливає не тільки на процеси росту та розвитку рослин, вона може підвищувати їх стійкість до таких стресових впливів, як засолення, аноксія і вплив патогенів, різкі коливання температури, посухи. Великі дози брасиностероїдів мають стимулюючий ефект на ріст рослин та їх стійкість до несприятливих факторів довкілля, що дозволяє розглядати їх як перспективну для практичного застосування в рослинництві групу фітогормонів.

Жасмонова кислота. Жасмонову кислоту (ЖК) виділено ще в 1962 р. з ефірної олії рослини жасмину великоквіткового, у якій вона знаходиться як летючий ефір – метилжасмонат. Проте біологічну роль цієї сполуки в рослинах встановлено в 1980 роках. Разом з жасмоновою кислотою, у рослинах виявлено інші сполуки, близькі за структурою та аналогічні за функціями – жасмонати (кукурбінова кислота (гарбуз), туберонова кислота (картопля)). У тварин і деяких рослин дуже подібними по структурі та процесах синтезу є простагландини.

Вміст (ЖК) в тканинах рослин збільшується за таких механічних подразнень як зміна тургорного тиску при водному дефіциті, рух вусиків. Концентрація (ЖК) є найвищою в зоні поділу клітин, молодих бруньках, квітах, навколопліднику.

Метаболізм. Жасмонова кислота синтезується гідролізом фосфоліпідів за участі фосфоліпази А. Таким чином відбувається вивільнення ліноленової кислоти з ліпідів, яка в подальшому за участі ліпоксигенази утворює перекисне похідне, далі - п'ятичленний цикл, що формує жасмонат.

Цікавим є те, що жасмонати стимулюють свій же синтез, що відбувається шляхом активації ліпоксигенази.

Метилювання жасмонової кислоти забезпечує утворення її фізіологічно активної форми – метилжасмонату, а глікозилювання - неактивної (запасної) форми. Жасмонова кислота при етерифікації стає леткою. Подібно до етилену метилжасмонат також може впливати на віддалені тканини та сусідні рослини через повітря.

Фізіологічні ефекти. Жасмонати регулюють діаметрально протилежні процеси: *гальмують вегетативний ріст і посилюють реакції імунної відповіді.*

Зміна біосинтезу білка. При дії жасмонатами впродовж доби і менше пригнічується біосинтез білків, пов'язаних з фотосинтезом, руйнується хлорофіл.

Під впливом жасмонатів *синтезуються вегетативні запасні білки (VSP)* та білки, характерні для *водного дефіциту (Lea)*. Очевидно, з допомогою жасмонатів рослина створює нові тимчасові депо нерозчинних азотвмісних сполук, за рахунок чого відбувається регуляція донорно-акцепторних відносин в метаболізмі азоту. Поява білків *Lea* в тканинах знижує інтенсивність току в флоемі, окрім того відмічається закриття продохів (рис. 3.14.).

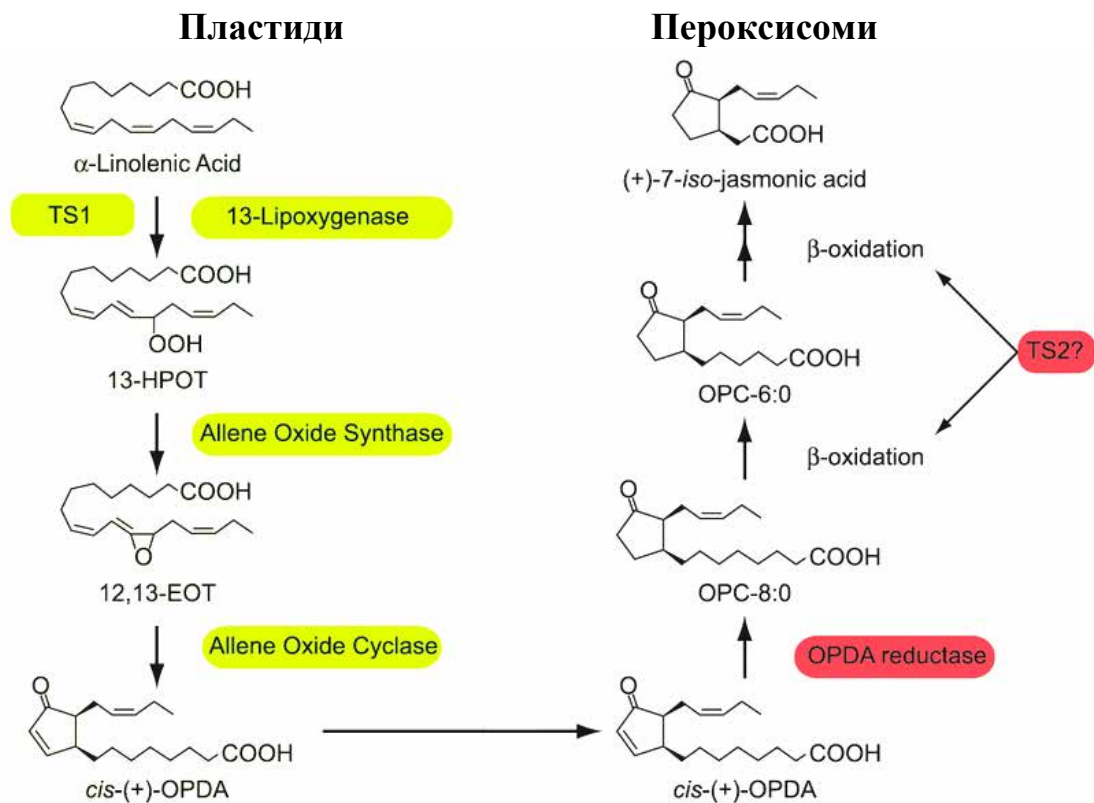


Рис. 3.14. Біосинтез жасмонової кислоти
<https://www.researchgate.net/>

Підвищення стійкості рослин до фітопатогенів. Пошкоджені фітопатогенами тканини відрізняються підвищеною концентрацією ЖК, яка викликає утворення екстенсинів (зміцнюють клітинну стінку, уповільнюють ріст), білків-тіонінів (приєднуються до мембран патогену), фітоалексинів (індуцибельні захисні сполуки), окрім того збільшується рівень інших фітогормонів (системін, саліцилова кислота).

Саліцилова кислота. Приналежність саліцилової кислоти до фітогормонів є дискусійною, оскільки для розвитку певних фізіологічних ефектів в рослинних клітинах її вміст повинен бути досить високим.

Цей фітогормон вперше було виділено в 19 ст. з дерев роду верба. Проте фізіологічні ефекти саліцилової кислоти (СК) в рослинному організмі було більш докладно вивчено і охарактеризовано пізніше, поштовхом для цього стало вивчення явища термогенезу у ароїдних.

Метаболізм. Біосинтез саліцилату розпочинається активацією ензиму фенілаланін-амоній-ліази. Перетворення фенілаланіну обумовлює синтез транс-коричної кислоти, що в подальшому через ряд реакцій перетворюється до бензойної кислоти – безпосередньої попередниці саліцилатів (рис. 3.15.).

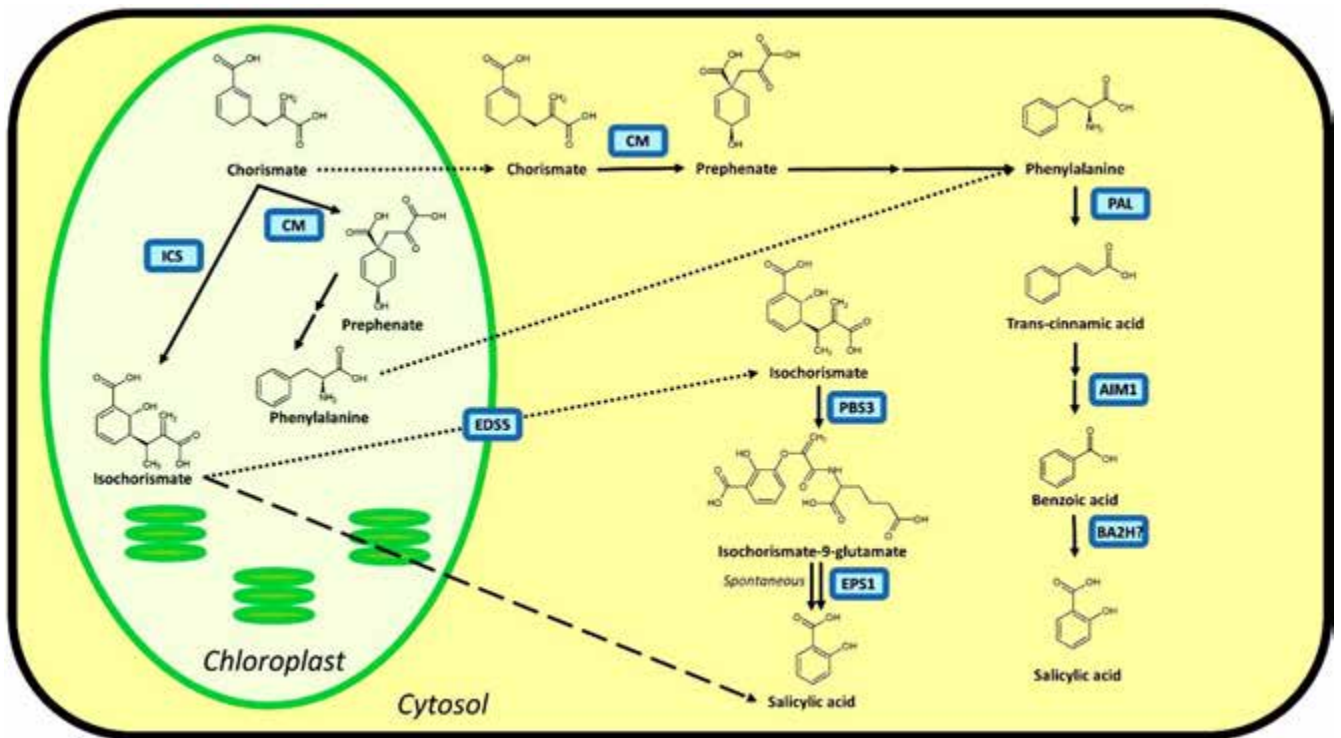


Рис. 3.15. Можливі шляхи біосинтезу СА в рослинах
<https://www.frontiersin.org/>

Саліцилова кислота може утворювати метиловий ефір та (або) зв'язуватися з глюкозою під дією глюкозилтрансферази. Проте, якщо β -D-глюкозил-саліцилат є неактивною сполукою, то метилсаліцилат є мобільним летким попередником, який легко перетворюється в тканинах-мішенях в СК.

Фізіологічні ефекти. *Регуляція термогенезу* саліциловою кислотою є особливістю функціонування ароїдних рослин та деяких інших.

Підвищення стійкості рослин до фітопатогену. Саліцилова кислота відноситься до фітогормонів, які забезпечують рослині стійкість до пошкодження різними патогенами. Рослини реагують на дію саліцилової кислоти синтезом так званих PR (pathogenesis related) – протеїнів. Вони мають кілька класів:

PR-1 – забезпечують системну стійкість, тобто ту, що розвивається в усьому організмі рослини і не локалізовану в місці проникнення патогенного агента.

PR-2 (β -1,3-глюказани) – забезпечують розщеплення глюканів клітинних стінок рослини, окремих грибів до коротких фрагментів, які стимулюють імунну реакцію клітини.

PR-3 (хітинази) – забезпечують розщеплення хітину в клітинних стінках грибів, утворені низькомолекулярні продукти яких є сигнальними для відновлення ділянки ушкодження гіфами гриба.

PR-4 гевейоподібні протеїни – за ушкодження забезпечують з'єднання каучуку.

Зміна активності ферментів. СК здатна приєднуватись до білків, які містять іони феруму, зокрема до ензимів (каталаза, аскорбатоксидаза). Така реакція обумовлює зниження активності каталази, при цьому в клітинах

збільшується вміст пероксиду водню та АФК. Активні форми кисню в надмірних концентраціях підвищують утворення саліцилатів та зумовлюють посилення вищезазначених процесів, при надмірних рівнях відбувається загибель клітин. Тобто саліцилати є алостеричними регуляторами дії окремих ензимів.

Олігосахарини. Короткі вуглеводні молекули, олігосахарини, є одними з регуляторів фізіологічних процесів у рослинах. Вони вивчаються з часу відкриття того факту, що при руйнуванні клітинної стінки паразитичним грибом фітофторою утворені продукти, олігосахарини, здатні провокувати виникнення специфічної імунної реакції в рослинах. Навіть невеликі перебудови скелету вуглеводів приводять до зникнення цього ефекту. Проте не всі олігосахариди є олігосахаринами, тобто сполуками з фізіологічною активністю.

Олігосахарини є продуктами, що утворюються при розщепленні структурних компонентів клітинної стінки рослин – полісахаридів. Цей процес запускається власними ензимами рослинної клітини чи ензимами бактерій або грибів. Олігосахарини можуть утворюватись ксилозою, рамнозою, галактозою, залишками уронових кислот, інколи багатоатомним спиртом інозитом, що частково походить з гліколіпідів мембрани. Окрім того, невеликі фрагменти хітину синтезуються рослинними хітиназами з грибків при інфікуванні ними.

Фізіологічні ефекти.

Стимуляція клітинного поділу клітин культури in vitro. Встановлено стимулюючий ефект фракції олігосахаринів суспензійної культури клена на процеси поділу клітин *in vitro*.

Участь у дозріванні плодів – ензиматичне руйнування гліканів в клітинній стінці обумовлює вивільнення активних олігосахаринів, що стимулюють дозрівання.

Утворення бульбочок у бобових рослин – специфічні олігосахарини є сигнальними молекулами у процесах впізнання симбіонтів у системі *Rhizobium*-рослина-господар. Без обміну олігосахаринами бульби бобових рослин не утворюються.

Короткі пептиди. Першим поліпептидним гормоном, що ідентифікований у рослинах є системін. Нині вивчено ряд коротких пептидів, які відіграють у рослинах функцію сигналіну. Синтезуються вони з високомолекулярних білків шляхом їх протеолізу і подальшого дозрівання пептидів. В подальшому вони направляються в апопласт. Системін є поліпептидом, утвореним 18 амінокислотами. Контрольне біосинтез системіну жасмонова кислота.

Фізіологічна роль системіну – забезпечення комплексної реакції-відповіді на механічні ушкодження, інокуляцію патогенів у рослинні клітини. При цьому, індукується синтез інгібіторів протеїназ та фітоалексинів. Ідентифікований рецептор системіну є поліпептидом локалізованим в плазматичній мембрані.

Іншим поліпептидом з фітогормональною активністю є фітосульфокін, що утворений послідовністю 4-5 амінокислот, з яких одна є сульфатованим тирозином. Цей пептид *in vitro* збільшує швидкість клітинного поділу за

рахунок підвищення мітотичного індексу. Фітосульфокін в найбільших кількостях знаходиться там, де поділ клітин відбувається найактивніше, забезпечуючи органогенез (утворення листків, бічних коренів).

Інший пептид CLAVATA 3, утворений 78 амінокислотами, синтезується верхніми шарами центральної зони меристеми та забезпечує регуляцію розмірів верхівкової меристеми пагонів.

Проростаюче пилкове зерно синтезує пептид SCR, утворений приблизно 57 амінокислотами та запобігає самозапиленню капусти.

Негормональні регулятори росту.

Природні регулятори росту. Рослини, окрім фітогормонів, містять ряд природних сполук, які регулюють ріст. До них належать фенолкарбонові кислоти, які мають ауксинову активність, феноли, похідні сечовини, що володіють ефектами, характерними для цитокінінів, окремі вітаміни.

Сполуки фенольної природи, представлені кавовою, хлорогеновою, коричневими кислотами. Вони здатні накопичуватися в рослинних клітинах у великій кількості, не переносяться судинами, діють локально там, де синтезуються, та і їх концентрація є в кілька разів вищою, порівняно з фітогормонами.

Разом з тим вони можуть стимулювати і інгібувати ріст рослин. Шикімова кислота є спільним попередником ауксинів та фенольних інгібіторів. Фенолкарбонові кислоти – ферулова, кавова, синапова – володіють захисною дією щодо ауксинів від руйнівного впливу ІОК-оксидази; інші фенольні сполуки, в протигагу попереднім, зменшують синтез ІОК і активують її розпад.

Регулятори росту синтетичної природи. Нині існує ряд штучно синтезованих сполук, які володіють ауксиноподібною дією. Вони представлені: похідними індолу (індоліл-3-пропіоновою та індоліл-3-масляною кислотами); хлорзаміщеними феноксипохідними (2,4-Д, 2,4,5-Т тощо); похідними нафтилалкілкарбонових кислот (1-НОК чи її калієвою сіллю, 2-нафтоксиоцтовою кислотою); похідними бензойної кислоти; похідними піколінової кислоти.

Ці синтетичні сполуки діють на рецептори ауксину, але їх система транспорту чи окиснювальна деградація відрізняється від природних аналогів. До синтетичних аналогів природних цитокінінів належать 6-бензиламінопурін і кінетин.

Синтетичними інгібіторами є гербіциди (використовуються для знищення бур'янів); антиауксини (гальмують переміщення ІОК в рослині); ретарданти (стимулюють збільшення товщини стебла з гальмуванням його лінійного росту); морфактини (стимулюють процеси морфогенезу).

Взаємодія гормонів. Гормони взаємодіють як метаболічно, так і функціонально. *Метаболічна взаємодія* обумовлена здатністю одних фітогормонів впливати на метаболізм інших. Для реалізації чи підтримання певної фізіологічної програми потрібне певне кількісне і якісне співвідношення фітогормонів.

В основі метаболічного взаємозв'язку фітогормонів є наявність у них спільних попередників: у гіберелінів, цитокінінів, абсцизової кислоти, брасиностероїдів – мевалонова кислота; ІОК, етилену – триптофан, метіонін. Це обумовлює виникнення конкуренції між фітогормонами щодо їх біосинтезу з речовини-попередника, на що впливає довжина дня, температура, вологість. ІОК активує утворення етилену і цитокініну; гібереліни – ауксину, етилену; цитокініни – ІОК, гіберелінів, етилену. Етилен пригнічує транспортування ІОК. Припускається, що вплив одного фітогормону на метаболізм інших є не безпосереднім, а виникає через їх вплив на фізіологічну активність рослинних тканин.

Функціональна взаємодія фітогормонів. Виявляється як синергізм, антагонізм або адитивність. Прикладом синергізму є взаємодія цитокінінів та ауксинів при стимулюванні поділу клітин в тканинах калюсу.

Антагоністична дія: ІОК стимулює доставку поживних речовин у верхівку стебла, проте гальмує ріст пазушних бруньок, а цитокініни, навпаки, накопичуються у верхівці стебла, гальмують вплив ІОК, тому стимулюється ріст бічних бруньок.

Отримання і застосування фітогормонів. Більшість аналогів фітогормонів можна легко отримати методом хімічного синтезу або з культури грибів. Взагалі, гриби виробляють усі природні гормони, але цей спосіб отримання дорожчий за хімічний синтез, хоча має свої переваги.

Успішне використання фітогормонів не можливе без врахування наступних особливостей. Синтезовані фітогормональні препарати ефективно впливають тільки за дефіциту природних ендогенних гормонів.

Наявність достатньої кількості природних ауксинів при обробці синтетичним фітогормоном може не забезпечити очікуваний результат чи навіть спричинити зворотну дію. Важливою є також сприйнятливість рослинної клітини до фітогормонів. Вона залежить від загального стану клітини, фази росту, наявності відповідних рецепторів.

Фітогормони і синтетичні регулятори росту активно використовуються в рослинництві.

Ауксин та його синтетичні аналоги.

- Штучне укорінення живців – застосовують зазвичай не ІОК, оскільки вона є нестійкою, а її синтетичні аналоги: 1-НОК та ІМК, оскільки вони є досить стабільними і не фітотоксичними.

- Боротьба з бур'янами. Високі концентрації синтетичного ауксину (0,1 %) спричиняють пошкодження і навіть загибель рослин. Причому різні рослини мають різну чутливість до дії цих речовин. Злаки майже не чутливі до синтетичного ауксину цієї концентрації, проте вона є згубною для дводольних рослин, тому ці сполуки використовуються як гербіциди.

- Запобігання передчасному опаданню плодів. У плодових культур (яблуні, груші) опадання плодів часто розпочинається завчасно, що зазвичай є результатом зменшення в них вмісту ауксину. Обробка дерев НОК (10 мг/л) за два тижні до збору урожаю запобігає зменшенню ауксинів в плодах, утворенню відокремлювального шару, забезпечує надходження до плодів додаткових

кількостей поживних речовин.

- Прорідження квіток і зав'язей плодкових дерев – проводиться синтетичними регуляторами росту у високих концентраціях (15–50 мг/л). Регулювання кількості квітів, зав'язі (зменшення) забезпечує великий розмір плодів, при цьому закладається більше квіткових бруньок, що формує достатній врожай майбутнього року.

- Дефоліація рослин реалізується за рахунок зменшення вмісту природного ауксину в рослинах, що призводить до пришвидшення старіння листя та утворення в черешках відокремлюючого шару. Обробка рослин перхлоратом магнію обумовлює зниження вмісту ауксину в листі і, як наслідок, до його опадання, що полегшує збір врожаю деяких культур.

- Отримання партенокарпічних плодів і стимуляція плодоутворення. За допомогою синтетичних аналогів ауксину отримують партенокарпічні плоди (не потребують запилення) у огірків, томатів, перцю, баклажанів та деяких інших сільськогосподарських культур. 2,4-Д та 1-НОК знайшли широке застосування на ананасових плантаціях для прискорення переходу рослин від ювенільного стану до зацвітання і плодоношення.

- Захист від весняних заморозків. Пізні весняні заморозки в період масового цвітіння плодкових спричиняють значні збитки. Регулятори росту в підвищених концентраціях можуть затримувати початок цвітіння. Якщо в кінці літа дерева обприскати розчином ІОК, то розвиток бруньок і розпускання квітів затримується до того часу, коли встановляться стабільні позитивні температури.

- Пролонгування періоду перебування бульб в спокої: оброблені метиловим ефіром НОК бульби картоплі впродовж двох років не проростають і зберігають свої харчові якості.

Гібереліни.

- Отримання безнасінних плодів, зокрема кишмишних сортів винограду.

- Переривання спокою бульб і насіння - найчастіше використовується в картоплярстві для вторинних літніх посадок бульб.

- Одержання солоду: гібереліни активують гідролітичні ферменти, що знайшло застосування у пивоварінні для отримання солоду.

- Нарощування вегетативної маси: обробка волокнистих культур ГК збільшує їх врожай та якість волокна, за рахунок більшої довжини стебел (коноплі можуть сягати 6 метрів). ГК активує ріст пагонів чайних кущів та підвищує концентрацію танінів у листі.

Цитокініни.

- Переривання спокою: реалізується подібно до ауксинів і гіберелінів.

- Зняття апікального домінування: стимулюють ріст пазушних бруньок, які гальмуються ауксинами, що забезпечує куціння рослин.

- Культура клітин і тканин рослин: цитокінін разом з ауксином є необхідними для отримання культури дедиференційованої калусної тканини. Використовуючи кінетин можна здійснювати регуляцію напрямків

морфогенезу в культурі ізольованих тканин.

Абсцизова кислота.

Здатна викликати закривання продихів, тому використовується як запобіжник втрати вологи при пересадці рослин та покращення їх стійкості до посухи. АБК викликає стимулювання утворення бульб у жоржин.

Етилен.

- Прискорення дозрівання плодів: незрілі плоди поміщають у спеціальні камери, куди періодично подається етилен, при цьому дозрівання лимонів та апельсинів відбувається на 4-5 добу (зазвичай 20-25 діб), помідорів на 5–6 добу (зазвичай 10–12 діб).

- Прорідження квітів, прискорення опадання плодів, дефоліація - полегшує механізований збір врожаю ягідних, плодових та окремих бобових культур.

- Вплив на диференціацію статі: обробка рослин з 1-5 справжніми листками розчином Етрелу стимулює утворення жіночих квітів.

Усі гормони широко використовуються для отримання рослин з ізольованих клітин і протопластів, а також при мікроклональному розмноженні.

Лабораторна робота № 8 **Вивчення апікального домінування в рослинах**

Явище апікального домінування характеризується пригніченням розвитку бічних бруньок тією брунькою, що знаходиться на верхівці основного пагона (апикальною). Фізіологічно це явище пояснюється синтезом ауксину в апікальній бруньці, що пригнічує різними механізмами розвиток інших бруньок.

Мета роботи: дослідити явище апікального домінування на різних модельних рослинах та встановити роль у ньому фітогормону ауксину.

Предмети і матеріали. Рослини (горох, помідори, квасоля, тощо); паста, приготована з ланоліну та гетероауксину; аналогічна паста без вмісту гетероауксину; лезо.

Хід роботи:

1. Відібрати рослини (горох, квасоля, помідор) з однаковими морфометричними показниками (довжина стебла 15-18 см).
2. Зрізати верхівки дослідних рослин.
3. На половину зрізів нанести гетероауксинову пасту (дослід 1), на інші – аналогічну без гетероауксину (дослід 2). Зразки підписати.
4. Помістити рослини контрольної і дослідної груп на добре освітлене місце і поливати щодня. В аналогічних умовах тримати рослини з незміненими верхівками.
5. Оглянути рослини дослідних груп та контрольні зразки через кілька діб та зробити висновок про вплив гетероауксину на бічні бруньки, їх ріст і розвиток.
6. Зробити та записати відповідні висновки.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Перечисліть фізіологічні ефекти ауксину.
2. Яке практичне застосування синтетичних аналогів природного ауксину в рослинництві?

Лабораторна робота № 9 Вивчення дії індоліл-3-оцтової кислоти на рослини

Дія ауксинів проявляється у різні фази росту клітини. Незначні концентрації є стимулюючими для процесів росту, тоді як високі – гальмують їх.

Мета роботи: Встановити дію індоліл-3-оцтової кислоти на процеси росту колеоптилів вівса у фазу розтягнення клітин.

Предмети і матеріали. Колеоптилі вівса довжиною більше 15 мм, отримані пророщуванням насіння вівса, сахароза 2 %, індоліл-3-оцтова кислота 0,1 %; пробірки, чашки Петрі, мірні піпетки (5, 10 ml), леза, пензлі.

Для приготування розчину індоліл-3-оцтової кислоти відважити її в кількості 0,3 г та розчинити в 0,5 мл етилового спирту, після чого довести дистильованою водою до об'єму 100 ml, нагрівати до температури 80 °C впродовж 5 хв і довести дист. водою до 250 ml.

Хід роботи

1. Підготувати і пронумерувати 6 пробірок, в кожену з яких відміряти розчин сахарози об'ємом 18 ml (сахароза є джерелом енергії).

2. В пробірку № 1 налити розчин ІОК 2 ml і перемішати. З першої пробірки у пробірку № 2 перенести 2 ml розчину, перемішати і знову ж перенести 2 ml в третю і т.д. включно з пробіркою № 5. У пробірку № 6 (контроль) внести 2 ml води.

3. Пронумерувати 6 чашок Петрі, в кожену з яких внести розчин з відповідної пробірки. Перенести в розчини колеоптилі вівса довжиною 10 мм без апексів, зрізаних на відстані 3 мм від верхівки (по 10 шт.) (в апексах містяться природні ауксини, які можуть впливати на результати).

4. Накрити чашки Петрі та помістити на 3 доби в темряву, температурний режим 25 °C.

5. Провести виміри довжини колеоптилів через 3 доби. Результати оформити у вигляді таблиці 3.1. Побудувати графік, що відображає залежність довжини колеоптилю (вісь ординат) від вмісту ІОК в розчині (вісь абсцис). Зробити та записати відповідні висновки.

Таблиця 3.1.

Ріст колеоптилю залежно від концентрації синтетичних ауксинів

№ пробірки / чашки Петрі	Середня довжина колеоптилів, мм		Приріст колеоптилів, мм
	початкова	кінцева	

Висновки:**Запитання і завдання для самоконтролю:**

1. Чи однаково реагують на вплив ауксину стебла і корені?
2. Як відбувається транспорт ауксину в рослині ?

Лабораторна робота № 10**Вивчення розподілу ауксинів у рослині гістохімічним методом**

Синтез ауксинів відбувається в тих частинах рослини, які інтенсивно ростуть (апекси рослин, молоді листки і їх зачатки, верхівка колеоптилю, активний камбій, провідні пучки, пилоч, насіння. Транспорт цих фітогормонів між клітинами відбувається дифузією, задля переміщення на більші відстані використовуються провідні тканини, флоема. Для вивчення розподілу ауксинів гістохімічним методом використовують якісні реакції на індолові похідні, до яких належить реакція Сальковського і реакція Прохазки. Взаємодія ІОК та реактиву Сальковського приводить до виникнення фіолетово-червоного забарвлення; взаємодія ІОК і реактиву Прохазки – жовто-оранжево-зеленої флуоресценції в УФ.

Мета роботи: Встановити ділянки з високим вмістом ІОК зважаючи на вид рослини, фазу онтогенезу.

Предмети і матеріали. Пророщена пшениця, ячмінь, кукурудза, листя рослин (бегонія, капуста), 0,5 М р-н FeCl_3 , 35% р-н HClO_4 , 25 % р-н HCl , галун залізоаміачний $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ і 50 % р-н H_2SO_4 , формалін (35% р-н), етиловий спирт 95 %, скельця предметні, мікроскоп, електрична плитка, УФ-лампа, гостре лезо.

Реактив Сальковського: 1 ml 0,5 М FeCl_3 розчинити в 50 ml 35% р-ну HClO_4 (готувати перед використанням).

Реактив Прохазки: 25 ml 35% р-ну формаліну, 25 ml 25 % р-ну HCl , 50 ml 95 % етилового спирту (готувати перед використанням).

Хід роботи:

1. За допомогою гострого леза зробити поперечні зрізи рослинних об'єктів (стебла, корені, колеоптилі, черешки і листки).

2. Розглянути отримані зрізи під малим збільшенням мікроскопа, помістивши попередньо у краплину дистильованої води.

3. Підібрати тонкі зрізи, з якими провести реакцію з реактивами Сальковського та Прохазки.

Реакція Сальковського: на зріз нанести краплю відповідного реактиву, накрити покривним скельцем, підігріти і розглянути під мікроскопом. Коричнево-фіолетово-червоне забарвлення є свідченням присутності у відповідній тканині ауксинів. Ця реакція не є строго специфічною, оскільки крім ІОК виявляє й інші індольні сполуки.

Реакція Прохазки: на зріз нанести краплю відповідного реактиву, прогріти впродовж 5 хв за 100 °С, розглядати в УФ променях.

4. Зробити відповідний висновок, акцентуючи увагу на розподілі ауксинів в різних частинах рослини (стеблі, коренях, колеоптилях, листках; злаках та дводольних рослинах (квасоля, горох); молодих, старих листках.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Де найбільш інтенсивно синтезуються ауксини ?
2. Яка фізіологічна роль ауксинів в рослинах?

Лабораторна робота № 11

Дослідження впливу ІОК на утворення коренів у живців

Ауксин є стимулятором утворення коренів у живців. Обробка живців розчином індоліл-3-оцтової кислоти чи гетероауксину індукує ризогенез додаткових коренів. Концентрацію розчинів, кратність, тривалість експозиції визначається видом рослини та станом рослинного матеріалу. Зазвичай вони знаходяться в межах 0,010-0,020 г/л, а тривалість обробки від 6 до 48 годин.

Мета роботи: Провести дослідження впливу індоліл-3-оцтової кислоти (концентрації, тривалості експозиції) на індукцію ризогенезу в живців.

Предмети і матеріали. Рослинний матеріал (традесканція, троянда, виноград, смородина, хризантема тощо – живці), проростки квасолі (12 днів); р-н гетероауксину (ІОК) – 0,010, 0,025, 0,05 і 0,10 г/л; склянки V 200 ml; скальпель або лезо.

Хід роботи:

1. Пронумерувати склянки № 1-5 і налити в перші чотири по 100 ml розчинів гетероауксину в концентраціях 0,010, 0,025, 0,05, 0,10 г/л, а в склянку № 5 (контроль) – звичайну воду.
2. Живці зі свіжими зрізами помістити в склянки з розчинами на 3, 6, 9 годин.
3. Вийняти рослини з розчинів через відповідний час і після

ополіскування їх під проточною водою поставити укореняти (в воді чи в кюветах з піском).

4. Провести спостереження за утворенням коренів та зробити і записати відповідні висновки.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Як діють ауксини на біомембрани?
2. Перерахуйте сполуки, що синтезуються в рослинах і мають ауксиноподібну активність.

Лабораторна робота № 12

Виявлення впливу гіберелінів на процес проростання насіння

Гібереліни, як і інші фітогормони, є індукторами різноманітних фізіологічних процесів в рослинах, які реалізуються за рахунок їх впливу на геном та функціонування зовнішньої і внутрішніх мембран. Дія ендогенних високоактивних речовин здійснюється на етапах транскрипції і трансляції та призводить до змін метаболізму.

Мета роботи: встановити здатність гіберелінів: стимулювати ензимне руйнування крохмалю в насінні при проростанні; синтезуватися в зародку.

Предмети і матеріали. Ячмінь або пшениця (насіння); р-н йоду в КІ, гіпохлорит натрію (5 % р-н), р-н етилового спирту 70 %; крохмальний агар 1 % в чашках Петрі з додаванням 0,5 % крохмалю, стерильний; аналогічний крохмальний агар з внесенням гібереліну 1 %; вода дистильована, конічні колби, скальпель, пінцет.

Підготовка насіння. Зерна ячменю необхідно очистити від зовнішніх плівок, для чого їх слід замочити в 50 % H_2SO_4 впродовж 3-4 годин. Після чого промити в колбі приблизно 9-10 разів, струшуючи і змінюючи дистильовану воду. Якщо насіння не має оболонки (пшениця), цей етап пропускають. Насіння підсушити.

Хід роботи:

1. Насіння, підготовлене зазначеним вище методом, розрізати впоперек за допомогою скальпеля чи леза, щоб утворилось дві половинки, одна з яких має зародок, інша – ні.

2. Провести стерилізацію зразків насіння шляхом їх замочування впродовж 6 хв 5 % розчином натрію гіпохлориту, після чого промити кількаразово стерильною дистильованою водою.

3. Обробленим спиртом пінцетом розмістити стерильні половинки на агар в стерильних чашках Петрі зрізом вниз, кришки яких відкривають мінімально. Дослід проводять за наступною схемою:

- № 1: агар і частинки насіння зі збереженими зародками;
- № 2: агар з додаванням гібереліну та частинки насіння зі збереженими зародками;
- № 3: агар і частинки насіння без зародків;
- № 4: крохмальний агар з додаванням гібереліну та частинки насіння без зародків;

4. Інкубувати підготовлені варіанти досліду (№ 1-4) в термостаті $t=25-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ впродовж 1-2 діб.

5. Агар залити тонким шаром розчину йоду, після чого по забарвленню агару встановити, чи наявний/відсутній крохмаль в різних чашках Петрі. Пояснити побачене, обґрунтувавши висновки впливом гібереліну на утворення *in vivo* β -амілази, яка каталізує гідроліз крохмалю.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Назвіть основне місце синтезу гіберелінів.
2. Як відбувається транспортування гіберелінів в рослині ?

Лабораторна робота № 13

Спостереження за фізіологічними ефектами цитокініну

До фізіологічних ефектів цитокінінів в рослинах належать: стимуляція клітинного поділу, клітинна диференціація, нівелювання апікального домінування, сприяння росту бічних пагонів, гальмування старіння листя. Окрім того цитокініни стимулюють утворення бетаціаніну (червоний пігмент), зокрема у щиріці на етапі проростання.

Мета роботи: Встановити фізіологічну дію синтетичних цитокінінів на рослинні тест-системи, зокрема синтез пігментів.

Предмети і матеріали. Рослинні об'єкти (бегонія, традесканція, хлорофітум, щиріця (насіння пророщують без доступу світла впродовж 3 діб, t 24-25 $^{\circ}\text{C}$; розчин синтетичних цитокінінів (6-бензиламінопурину чи кінетину) концентрацією 10^{-7} М, буфер фосфатний (рН 6,3), р-н кінетину (5 mg кінетину та 1,5 ml 0,1n NaOH розчинити в 200 ml води), L-тирозин; термостат, чашки Петрі.

Хід роботи:

Дослід 1

1. Обприскати листя рослин водою (контроль), аналогічну кількість листків обприскати розчином кінетину або 6-бензиламінопурину (дослід).
2. Через добу за допомогою спеціального свердла в листках зробити висічки і розмістити їх на зволожений папір у чашки Петрі та інкубувати 72 год в темряві.

3. По завершенню цього часу реєструють, чи змінився колір висічок.
5. Повторюють спостереження ще раз через дві доби і формулюють висновок щодо дії цитокінів на процес старіння тканин рослин.

Дослід 2

1. Проростити насіння щириці (див. вище) та видалити у рослинках корені.
2. У чашку Петрі № 1 (контроль) на зволожений дистильованою водою фільтрувальний папір помістити 10 підготовлених проростків.
3. У чашку Петрі № 2 (дослід) на зволожений фосфатним буфером з додаванням L-тирозину і синтетичних цитокінінів фільтрувальний папір помістити інші 10 підготовлених проростків.
4. Накрити чашки Петрі верхньою кришкою і помістити в термостат (24 °C) на 18-20 годин.
5. По завершенню вказаного періоду проаналізувати, чи змінився колір проростків в контролі і досліді. Записати дані та сформулювати висновки.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Чому відбувається гальмування старіння листя за дії синтетичних цитокінінів?
2. Який вплив цитокініну на хлоропласти?

Лабораторна робота № 14

Дослідження антагоністичних взаємовідносин цитокініну та АБК

Абсцизова кислота і етилен усувають дію ауксинів, гіберелінів і цитокінінів. Антагонізм цитокініну та АБК в рослинах підтверджується в дослідах з використанням ізольованих сім'ядолей гарбуза. Під впливом абсцизової кислоти гальмується цитокінінобумовлений синтез рибонуклеїнової кислоти і протеїнів, активність ензимів хлоропластів та цитоплазми, що візуально виражається гальмуванням зростання сім'ядолей і їх позеленінням.

Мета роботи: Встановити, чи цитокінін і абсцизова кислота мають антагоністичну дію на процеси росту, яка зокрема виявляється утворенням зеленого пігменту ізольованих гарбузових сім'ядолей.

Предмети і матеріали. Насіння гарбуза, р-ни 6-бензиламінопурину та абсцизової кислоти аналогічних концентрацій 10 мг/л, скальпель або лезо, скельця (предметні, покривні), мікроскоп, чашки Петрі.

Хід роботи:

1. Замочити гарбузове насіння на 2 години у дистильованій воді.
2. З насінин виділити сім'ядолі та розкласти їх на фільтрувальний папір у три чашки Петрі: № 1 – 2 мл H₂O (контрольна); № 2 – розчин 6-

бензиламінопурину (10 мг/л); № 3 – розчин абсцизової кислоти (10 мг/л).

3. Накрити чашки Петрі кришками і помістити на 6 діб в темне місце.
4. Через вказаний час порівняти забарвлення сім'ядолей усіх груп.
5. Зробити поперечний зріз сім'ядолей з кожної чашки Петрі та розглянути під малим збільшенням мікроскопу. Побачене зарисувати.
6. Порівняти зрізи контрольної і дослідних груп та сформулювати і записати відповідні висновки.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Назвіть синергічні та антагоністичні ефекти фітогормонів.
2. Перерахуйте біологічні ефекти цитокінів

Лабораторна робота № 15

Дослідження впливу етилену на процеси росту рослин

Етилен володіє різноманітними фізіологічними ефектами в організмі рослин, що виражається гальмуванням лінійного росту паростків, порушенням нормального ортотропного положення рослини, індукцією потовщення стебла, опаданням листя та плодів, старінням тканин за досить низьких концентрацій (1:1000000). Стрес-фактори стимулюють синтез етилену в рослинах.

Мета роботи. Встановити, як впливає етилен на процес росту організму рослин.

Предмети і матеріали. Горох (боби) пророщені (6-7 діб) в умовах відсутності світла (етіольовані); ковпаки зі скла та скляні пластинки до них; стиглі яблука, паста з ланоліном і водою; паста з ланоліном і індоліл-3-оцтовою кислотою (0,01 %).

Хід роботи:

1. Етіольовані паростки гороху помістити на пластинки зі скла, які накрити щільно (край змазати вазеліном) спеціальними ковпаками.
2. Дослід проводять за наступною схемою:
 - *Контроль* – проростки та повітря без додаткових сполук;
 - *Перша дослідна* – паростки та стиглі яблука (продуценти етилену) або світільний газ.
 - *Друга дослідна* – аналогічна першій дослідній, проте в паростків відсікають верхівки і накладають на зрізи пасту з ланоліну і води;
 - *Третя дослідна* – аналогічна першій дослідній, проте в паростків відсікають верхівки і накладають на зрізи пасту з ланоліну, що містить 0,01 % індоліл-3-оцтової кислоти.

Паростки усіх дослідних груп залишають в темряві на 14 діб. На 7 і 14 добу аналізують показники їх росту за висотою і діаметром стебел. Результати

оформлюють у вигляді таблиці 3.2.

3. По закінченню експерименту зробити зрізи стебла (поперечний/поздовжній) з паростків рослин дослідних груп та зрівняти їх анатомічні особливості. Замалювати.

Таблиця 3.2.

Вплив етилену на ростові процеси у рослин

Варіант досліду	Довжина стебла, мм		Діаметр стебла, мм	
	за 7 діб	за 14 діб	за 7 діб	за 14 діб

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Назвіть основні біологічні ефекти етилену.
2. Який шлях біосинтезу етилену?

Лабораторна робота № 16

Дослідження життєздатності насіння за Гуревичем

Динітробензол є тією речовиною, яка легко проникає крізь насінневу оболонку. Розчин динітробензолу, який у нативному вигляді є безбарвним, може відновлюватись живим насінням внаслідок процесів дихання, що приводить до утворення насичено-жовтого забарвлення, при додаванні розчину аміаку – темно-пурпурового. При внесенні в розчин динітробензолу неживого насіння він не відновлюється та лишається безбарвним.

Мета роботи: Дослідити здатність живого насіння відновлювати розчин динітробензолу та встановити відсоток його схожості.

Предмети і матеріали. Насіння (пшениця, ячмінь – живі зразки та мертві (помістити в термостат на 2 години t 80 °C)) замочене на 24 год водою; розчин динітробензолу (насичений); розчин аміаку; невеликі колби з корками; лезо; термостат.

Хід роботи:

1. Відібрати 100 наповнених цілісних насінин ячменю чи пшениці, помістити в ємність та залити свіжоприготовленим динітробензолом.
2. У іншу ємність помістити мертве насіння і також залити розчином динітробензолу.
2. Щільно закрити ємності та помістити в термостат (температура 40°C).
3. Через 60 хв злити динітробензол та замінити його розчином аміаку і залишити на 15 хв.

4. Зробити поперечні зрізи насінин, так щоб в кожній насініні зріз проходив по лінії зародку з візуалізацією зародкового корінця. У життєздатних насінин корінець темно-пурпурового кольору, у неживих – безколірний.

5. Порахувати відсоток життєздатного насіння.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Чи можна використовувати вказаний метод у рослинництві?
2. Чому у неживому насінні зародковий корінець залишається незабарвленим?

Лабораторна робота № 17

Дослідження перетворень запасних речовин у насінні при його проростанні

У насінні рослин відбувається накопичення різних запасних поживних речовин – білків, жирів, вуглеводів. Насіння поділяється на крохмальне (пшениця, жито, горох – крохмаль) та олійне (рицина, соняшник, ріпак – основна запасна речовина у ньому жири).

Ріст і розвиток паростків обумовлює ензиматичне перетворення складних запасних речовин на більш прості, які забезпечують вищезазначені процеси.

Наявність альдегідо- або кетогрупи у моносахаридів, деяких дисахаридів (мальтоза, лактоза) забезпечує їх редуруючі властивості, тобто здатність відновлювати реактив Фелінга, тоді як сахароза є нередуруючим вуглеводом.

Мета роботи: Провести дослідження хімічного складу насіння до та після проростання.

Предмети і матеріали. Насінини пшениці, соняшнику (висушені та пророщені), реактив Фелінга, розчин I_2 , р-н судану, фарфорові ступки, скальпель, світловий мікроскоп, скло (предметне/накривне).

Хід роботи:

1. Взяти чотири ступки. В першу помістити 10 сухих насінин пшениці, в другу – 10 пророщених насінин пшениці, в третю – 10 сухих насінин соняшника, в четверту – 10 пророщених насінин соняшника.

2. Розтерти ретельно насіння і перенести в попередньо підготовлені та пронумеровані пробірки. В кожну додати по 5 мл дистильованої води і помістити в киплячу водяну баню на 15 хвилин, щоб відбулася екстракція вмістимого.

3. Відділити витяжку від осаду та перемістити в нові пробірки, додавши аналогічну кількість реактиву Фелінга, та повторно на 5 хвилин поставити у киплячу водяну баню. При цьому за кількістю коричнево-червоного осаду Cu_2O можна оцінити вміст редуруючих вуглеводів.

4. До осаду, що залишився після відділення витяжки, додати йодний

розчин (інтенсивність синього кольору залежить від вмісту крохмалю).

6. Зробити зрізи з соняшникового насіння (пророслого, сухого) та помістити їх на скельця в краплю барвника судану III, накрити покривним склом. Через 5 хвилин промити водою і розглянути в мікроскопі, оцінюючи вміст жирів шляхом встановлення кількості/розмірів крапель червоного чи помаранчевого кольору.

7. Результати оформити у вигляді таблиці 3.3, оцінивши вміст крохмалю, цукрів та жирів за 5-бальною шкалою. Зробити відповідні висновки, щодо хімічного складу насіння до та після проростання.

Таблиця 3.3.

Перетворення речовин під час проростання насіння

Насіння		Крохмаль	Редукуючі цукри	Жири
Крохмальне	сухе			
	проросле			
Олійне	сухе			
	проросле			

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Перерахуйте ензими, що задіяні в активації поживних речовин в насінні?
2. Які органи рослини є основними для запасання поживних речовин?

Лабораторна робота № 18
Дослідження геотропічної реакції рослин

Геотропізмом називають здатність рослини набувати певного розташування в просторі, залежно від напрямку дії сил гравітації. Для коренів рослин характерний позитивний геотропізм, для стебла – негативний. Кореневий чохлак «сприймає» силу земного тяжіння, тому якщо паросток рослини розмістити паралельно горизонту, корінь загнеться вниз, а стебло, навпаки, вгору, що обумовлено різними гормональними статусами цих органів.

Мета роботи: Дослідження залежності напрямку росту різних органів рослин під дією земного тяжіння.

Предмети і матеріали. Скляна банка, скляні пластини, папір фільтрувальний, паростки рослин (горох, квасоля тощо).

Хід роботи:

1. Обгорнути пластини зі скла фільтрувальним папером, на який закріпити в природному положенні (кінчики вниз) 2-3 насінини з проростками.
2. В скляні банки на дно налити невелику кількість води і покласти скляні пластинки з закріпленими рослинами для подальшого їх росту. Накрити

банки склом.

3. Після того як корінці рослиннок досягнуть довжини 7-8 см, пластинку помістити вертикально, щоб рослинка набула горизонтального положення та провести подальше спостереження за напрямками росту коренів і стебел.

4. Зробити відповідні висновки про геотропію коренів та стебел.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Поясніть поняття фототропії та гідротропії?
2. Чи характерний геотропізм для багаторічних рослин?

Питання для обговорення та самоперевірки до Розділу 3:

1. Особливості розвитку рослин.
2. Етапи розвитку рослини.
3. Фізіологічна роль індоліл-3-оцтової кислоти.
4. Метаболізм цитокінінів.
5. Хімічна структура гіберелінів.
6. Фізіологічні ефекти гіберелінів.
7. Природні сполуки з подібною до абсцизової кислоти біологічною активністю.
8. Транспорт абсцизової кислоти.
9. Фізіологічні ефекти етилену.
10. Де спостерігають найбільшу швидкість утворення етилену.
11. Фізіологічна роль брасиностероїдів.
12. Фізіологічна роль жасмонової кислоти.
13. Чи належить саліцилова кислота до фітогормонів.
14. Олігосахариди як регулятори фізіологічних процесів у рослинах.
15. Поліпептидні фітогормони, ідентифіковані у рослинах.
16. Негормональні регулятори росту.
17. Метаболічна взаємодія фітогормонів.
18. Функціональна взаємодія фітогормонів.

РОЗДІЛ 4

РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН

Тема 4.1. Фази росту

Ріст – це процес новоутворень в організмі, часто пов'язаний з необоротним збільшенням розмірів рослини. Ми спостерігаємо процес росту, дивлячись, як проростає насіння, розкриваються бруньки, досягають плоди. У рослин ростуть клітини, тканини, органи. Одночасно формується рослинний організм, він розвивається. Верхні клітини точки росту (конуса наростання) будь-якої рослини характеризуються рядом особливостей. Вони мають ізодіаметричну (від гр. ізос – рівний; діаметрос – поперечник) будову. Відношення об'єму ядра до об'єму клітини в них досить велике. Ці клітини вповнені протоплазмою і не містять вакуолей або містять дуже дрібні вакуолі. Найхарактерніша особливість цих клітин здатність їх до поділу.

У міру руху вниз від верхівки конуса наростання здатність клітин до поділу зменшується і, нарешті, вона зовсім втрачається. У цих клітинах спочатку утворюються дрібні вакуолі, які потім збільшуються і зливаються в одну велику вакуолю. Ця вакуоля вповнює всю центральну частину клітини, а протопласт розташований тонким пристінним шаром. Розміри таких клітин значно збільшуються. Якщо клітини рівномірно збільшуються у всіх напрямках, то утворюються паренхімні клітини (від лат. раг – рівний, однаковий; *enchyma* – влите. налите), а якщо лише в одному напрямку – прозенхімні (від гр. прос – у напрямі до).

Ще далі від кінчика конуса наростання звичайні клітини можуть перетворюватися в різні утворення. Наприклад, паренхімні клітини перетворюються в кам'янисті клітини, або склереїди (від гр. склерос – сухий, твердий; ейдос – вид). Клітина може перетворитись у членник судини, на бічних стінках якої утворюються різні типи потовщень тощо.

Це явище спостерігав ще відомий німецький фізіолог рослин Ю. Сакс. Він виділив три фази (стадії): ембріональну, розтягування, внутрішньої диференціації.

Ембріональна фаза. Ця фаза характеризується поділом клітин. Клітини, що діляться, відносять до ембріональної (від гр. ембріон – зародок), або меристематичної тканини (від гр. меристес – ділитель).

Розрізняють такі типи меристеми: апікальну (від лат. арех – верхівка), розташовану в точці росту стебла і кореня; базальну (від гр. базис – основа), розташовану у деяких рослин в основі стебла або листків; інтеркалярну (від лат. *intercalaris* – вставний, додатковий), розташовану у деяких рослин, наприклад у злакових, у основі кожного меживузля, між зонами постійних тканин. До меристематичної тканини належить також камбій (від лат. *cambium* – обмін), або бічна меристема, за допомогою якої рослини ростуть у товщину. Розрізняють первинний і вторинний, корковий, камбій. Для клітин первинного камбію властиві всі особливості інших меристематичних клітин: вони діляться, густо вповнені протоплазмою. Проте вони значно видовжені (іноді довжина їх в кілька десятків разів, перевищує ширину) вздовж стебла (лише при утворенні

серцевинних променів у дерев вони мало видовжені) і набагато ширші в тангентальному напрямі, ніж в радіальному. Клітини первинного камбію звичайно діляться тангентально. При цьому до середини відкладаються елементи деревини (ксилеми, від гр. ксилон – дерево), а назвні елементи кори (флоеми, від гр. флойос – кора, лико). З віком із збільшенням діаметра дерева збільшується і окружність камбію. У деяких рослин при цьому клітини діляться антиклинально (від. гр. анти – проти; кліно – гну, вигинаю), завдяки чому у клітинах камбію утворюється поздовжня радіальна оболонка. У всіх інших покритонасінних та голонасінних рослин відбувається псевдопоперечний поділ клітин камбію, при якому клітина ділиться на дві навкісною перегородкою, що проходить через її центр. Потім дві так звані дочірні клітини, які утворились в результаті поділу, починають рости в кінцевих точках доти, поки не досягнуть розмірів клітини, з якої вони утворилися. Ці клітини звичайно найбільше видовжуються в морфологічно нижніх кінцях або тих, що розташовані біля перегородки.

Вторинний, або корковий, камбій утворюється з клітин, постійних тканин (найчастіше паренхіми кори).

Меристематичними клітинами у корковому камбії є тільки одного ряду клітини – фелогену (від гр. феллос – корок; генос – народження). Від фелогену до середини відокремлюється найчастіше тільки один шар клітин – фелодерма (від гр. феллос – корок; дерма – шкіра) і кілька шарів клітин назвні – фелема, або фелоїд (від гр. феллос – корок; ейдос – вид).

Діяльність камбію спостерігається і при заростанні ран. Ранами називають будь-які пошкодження, при яких втрачається зв'язок між окремими клітинами, оголюються внутрішні тканини органа, і, звичайно, розвиваються або розрізуються оболонки клітин. При невеликих ранах (поранення листка, плода, а також стебла у трав'яних рослин) внаслідок діяльності так званого коркового камбію утворюється пробка, або корок. При великих ранах у дерев та кущів утворюється наплив калюс (від лат. *callus* – товста шкіра, мозоль), що являє собою пухку паренхімну тканину. Найшвидше калюс утворюється внаслідок поділу клітин камбію, розташованих поряд з раною. Так камбій насувається концентрично на поверхню рани і вона поступово зовсім заростає. Невеликі рани заростають, звичайно, за одне літо, а великі протягом кількох років. Рани діаметром 3-5 см заростають за 4-8 років, 10-15 см – за 10-15 років, 15-20 см – за 15-20 і більше років. Швидкість заростання рани залежить від стану дерева: на міцному здоровому дереві рани заростають швидше, ніж на хворому.

Ріст рослин взагалі може відбуватись у трьох (плоди, кінець гілки), а також у двох (штамб дерева) і в одному (нитка *Spirogyra*) напрямках.

Розглянемо докладніше питання про локалізацію росту. У простіше організованих рослин багатьох водоростей і грибів – ріст, очевидно, не локалізований: у них всі, або значна частина клітин тіла здатні ділитися. Наприклад, нитка *Spirogyra* росте за рахунок поділу будь-якої клітини її тіла.

Проте у деяких простіших нитчастих бурих водоростей ріст у довжину обмежений верхівкою нитки, де розташована одна велика клітина. Вона

ділиться поперечними перегородками і відокремлює знизу ряд клітин, кожна з яких ще може кілька разів ділитися як поздовж, так і поперек, утворюючи невеличкі за розміром клітини, які перестають ділитися. Розгалуження цієї клітини відбувається внаслідок поздовжнього відокремлення від верхівкової клітини бічного виросту. У більших за розміром і складніше організованих бурих водоростей типу *Fucus* ріст відбувається також за рахунок активності однієї верхівкової клітини, розташованої в основі виїмки на кінці талому. З двох сторін цієї клітини відокремлюється по клітині, з яких утворюються різні елементи талому. Подібний ріст спостерігається і у заростків папоротей.

Ріст мохів, більшості папоротей, хвощів і багатьох плаунових відбувається у верхівкових (ініціальних) клітинах. Ці клітини, звичайно, мають вигляд тригранної піраміди, поверненої основою доверху, і поділ відбувається паралельно трьом бічним граням її. Основний ріст тканин цих рослин відбувається за рахунок наступного поділу таких новоутворених клітин та клітин, що з них утворилися.

У деяких нижчих судинних рослин, наприклад, у *Lycopodium*, а також у більшості голонасінних і покритонасінних рослин верхівка пагона (як і кінчик кореня) має цілу групу ініціальних клітин.

Точку росту у вищих рослин вперше описав К. Ф. Вольф у 1759. Точка росту – кругла, куполоподібна маса клітин, навколо основи якої послідовно закладаються зачатки листків, а потім і бруньок.

Завдяки ґрунтовному вивченню точок росту сформульовано ряд теорій і концепцій. Першим запропонував широко відому в свій час теорію гістогенів Ганштейн. Він розрізняв у точці росту три групи клітин, які, диференціюючись, дають початок різним тканинам стебла. Зовнішній одношаровий дерматоген (від гр. дерма – шкіра; генос – народжений) утворює епідерміс. З периферії (від гр. перифлема – покрив), розташованої під ним, виникає кора. З плероми (від гр. плерома повнота, заповнення), внутрішньої частини точки росту, де немає добре видимих рядків клітин, утворюється центральний циліндр та серцевина.

А. Шмідт у 1924 виділив зовнішню зону, що має 1-4 ряди клітин, туніку (від лат. *tunica* – оболонка). Туніка вкриває внутрішні клітини, що діляться в різних напрямках і є корпусом (від лат. *corpus* – тіло) точки росту. Ця теорія не стверджує, що та або інша з цих зон утворює спеціальні органи або тканини рослин. Деякі вчені вказують на зональний характер точок росту. Так, Пофем на основі власних дослідів та аналізу робіт інших учених дійшов висновку, що у судинних спорових рослин є одна або більше верхівкових клітин, а тканини, які містяться під ними, іноді диференціюються на центральну і периферійну меристеми. Він вважає, що у насінних рослин можна розрізнити кілька зон:

- 1) поверхневу, або мантію, що утворена двома або кількома шарами клітин і приблизно відповідає туніці;

- 2) субапикальних материнських клітин, неоднорідних за формою, часто дуже вакуолізованих, що діляться рідше від клітин, що оточують їх;

- 3) центральну, яка дає початок ланцюжковій (стрижневій) меристемі і серцевині;

4) периферійну, розташовану зовні від центральної зони, з якої утворюється кора і прокамбій.

Точка росту вищих рослин розглядається як серія послідовних зон, які зливаються між собою, але кожна з яких має свою специфічну фізіологічну та морфологічну активність, а саме:

1) дистальну (верхівка апексу), що скла дається з одного або кількох шарів ініціальних клітин і являє собою центр меристеми, від якого залежить інтеграція і безперервність розвитку первинного апексу;

2) субдистальну, що складається з одного або кількох поверхневих шарів меристематичних клітин, а всередині, залежно від виду рослин, – з ембріональних клітин або таких, що вже диференціюються, і являє собою первинний ростовий центр;

3) органогенну, розташовану під епідермальною зоною, в цій зоні закладаються листкові примордії, і починають диференціюватись тканини;

4) субапикальну, що охоплює значно ширшу і більшу частину верхівки і характеризується помітним збільшенням примордіїв, активним утворенням паренхімовидної кори і серцевини та дальшою диференціацією тканин;

5) зону дозрівання клітин, де остаточно завершується диференціація та органогенез.

Я. А. Дудинський досліджував верхівки стебла злаків і замість чотирьох перших зон виділив конус наростання, що закінчується утворенням ініціальних клітин примордіального листка (першого листкового бугорка), і примордіальну зону, яка покриває зону листкових горбиків і закінчується на рівні прикріплення останнього примордіального листка, названого автором зімкненим каптуром. П'яту зону, Уорллоу Дудинський розглядає як частину власне стебла або пагона.

У деяких працях було доведено, що протягом онтогенезу точки росту істотно змінюються: змінюються їхні розміри, форма, кількість клітин у них, напрям головної осі, ступінь розвитку виліплений; окремих зон і їх відособленість. Зміни, які відбуваються у конусі наростання в період вегетативної фази розвитку рослини залежать від стадій пластохрону (від гр. пластос – виліплений; хронос – час) відрізка часу між закладанням двох послідовних ембріональних листків або двох пар листків при супротивному листорозташуванні, а також від онтогенетичного розвитку рослин та умов їх вирощування.

Досліджуючи морфологію і фізіологію конусів наростання в онтогенезі рослин, що вирощувались у різних умовах, Бюва висунув концепцію «меристеми чекання» (фр. *méristeme dottente*). В точці росту рослини він розрізняє ініціальне кільце, з якого утворюються ембріональні листки, а в стеблі паренхіму кори, провідні тканини, апікальну меристему, що побудована з спорогенної і рецептакулярної (квітколожною) меристем, і медулярну меристему, з якої утворюються клітини серцевини. «Меристема чекання» розташована у верхній частині конуса наростання і характеризується малою активністю її клітин: в них мітози або зовсім не відбуваються, або кількість їх значно зменшується. При переході до цвітіння, спостерігається активізація

апикальної частини конуса наростання. Її клітини швидко діляться, відтискують ініціальне кільце, яке значно втрачає свою активність. Отже, клітини, які були раніш неактивні, в стані «чекання» є джерелом утворення суцвіть.

Пізніше дослідженнями було уточнено поняття меристеми чекання. При цьому виявлено, що:

1) не має точної межі між нею та ініціальним кільцем, оскільки при високій активності мітотичних поділів у ньому вони захоплюють і апикальну зону;

2) меристема чекання звичайно характеризується не повною відсутністю активності своїх клітин, а лише зниженням її порівняно з клітинами ініціального кільця;

3) поява «меристеми чекання» пов'язана з умовами вирощування рослин, від чого залежить її площа і тривалість періоду, протягом якого вона проявляється.

Хоч тепер і відомо, що шаруватість конусів наростання дуже мінлива і що ті самі тканини можуть виникати у деяких рослин з однієї меристематичної ділянки, а у інших - з іншої, і що, нарешті, в утворенні органів генеративного розвитку (квіток і суцвіть) беруть участь не лише центральні верхівкові клітини точок росту, проте наявність «меристеми чекання» тепер визначається багатьма дослідниками.

В корені деяких рослин виявлено центр спокою, розташований в кінчику кореня, безпосередньо над шапінкою. Цей центр подібний до «меристеми чекання» конуса наростання стебла.

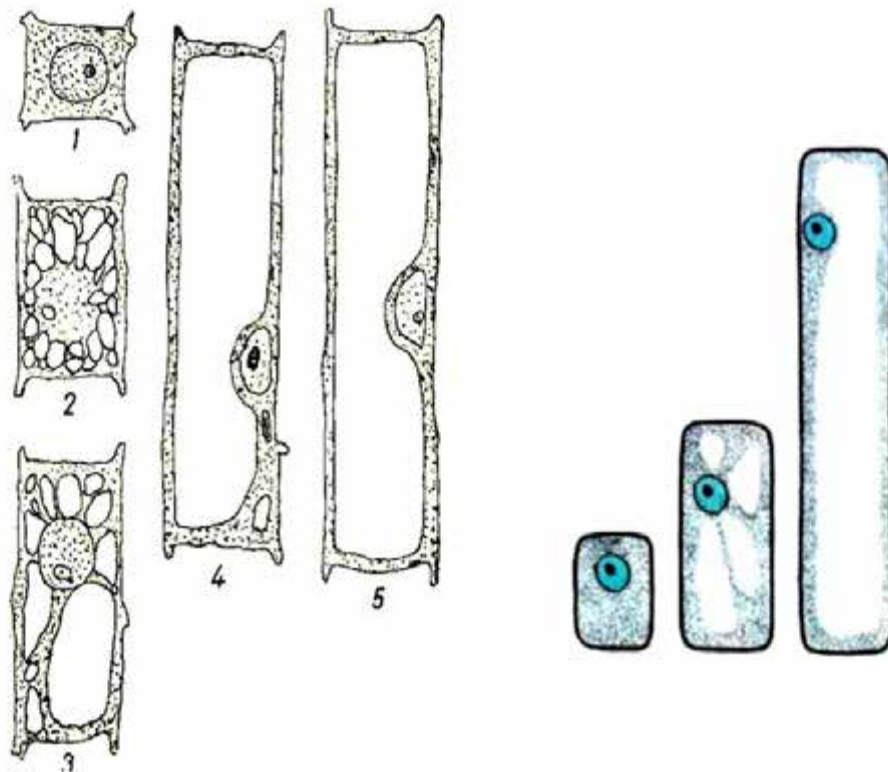
Нуклеїнові кислоти в конусах наростання розташовані нерівномірно, в апикальній частині конуса («меристема чекання») ДНК і РНК менше, ніж у навколишній зоні периферійної меристеми, що бере участь в утворенні листових горбиків. Це доведено за допомогою авторадіографічних досліджень із застосуванням ізотопів; тимідину – ^3H , аденіну – ^{14}C і двозаміщеного фосфату – ^{32}P . В клітинах «меристеми чекання» спостерігається зниження вмісту гістонів, SH-груп та ін.

Досить важливим є питання про площу перегородок клітин під час їх поділу. Сформульовано загальне правило, про те, що ріст передуює поділу, і що нова перегородка утворюється перпендикулярно поздовжній осі материнської клітини. Нові перегородки звичайно трохи зміщені відносно перегородок сусідніх клітин і тому клітини завжди теж дещо «зміщені», подібно до розташування цеглин при спорудженні стіни. Проте, при утворенні корку перидерми клітинна перегородка розташовується точно проти перегородки сусідньої клітини. У цьому випадку чотири перегородки сходяться в одній точці. Це саме відбувається і в тканині, що формує аеренхіму, де клітини розміщені правильними рядами з поперечними перегородками, розташованими одна проти одної.

Доведено, що в кожній точці перетинаються лише три перегородки і кути між ними дорівнюють близько 120° . Це явище можна спостерігати, зокрема, при утворенні серцевини стебла, ендосперму насіння тощо. Проте бувають і винятки з цього правила. Наприклад, клітини камбію діляться не по

найкоротшій відстані (не поперечними перегородками і не по радіусу, а по найдовшому і найширшому тангентальному напрямку (при рості в товщину), і так званім псевдопоперечним способом (при збільшенні окружності камбію). У ризоїдах протонеми листяних мохів перегородки також не поперечні, а косі. Іноді, коли клітини підходять одна до одної (наприклад в епідермісі листків дводольних рослин), відбувається так званий кутовий поділ. При цьому нова перегородка має увігнуту форму, увігнутий бік якої обернений до кута, яким одна клітина дотикається до двох інших, а до старих перегородок вона підходить майже під прямим кутом.

У деяких випадках спочатку діляться тільки ядра і утворюється багатоядерне утворення, яке може так і залишитись без перегородок (*Caulerpa*, *Botrydium granulatum*, при утворенні зооспор, в клітинах меживузль *Chara*, при поділі ядер у зародковому мішку та ін.). При цьому утворюються так звані неклітинні організми, або полісенергидні утворення (рис. 4.1.).



Послідовні етапи росту клітин кореня

1 - ембріональна фаза, 2,3,4,5 - фаза розтягування

Рис. 4.1. Ембріональний розвиток рослин.

<https://ppt-online.org/>

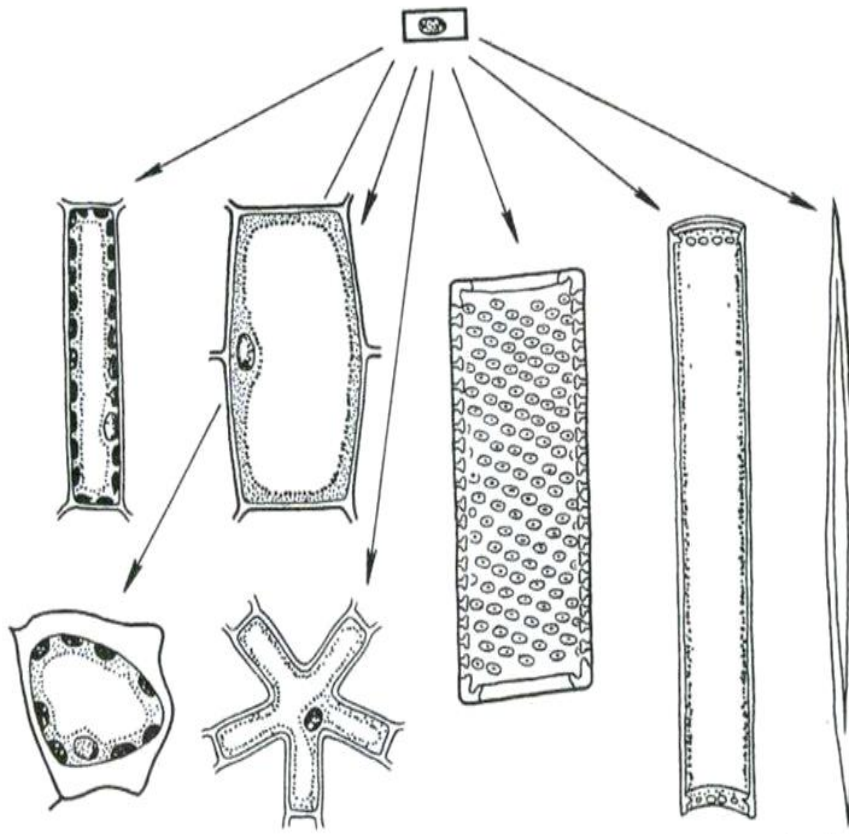
Фаза розтягування. При поділі клітин збільшується їх кількість і дуже мало змінюється розмір клітин. Навпаки, на фазі розтягування збільшується саме розмір клітин. Розміри оболонок клітин та їх внутрішнього вмісту збільшуються неоднаково. Внутрішній вміст збільшується в основному завдяки утворенню та росту вакуоль. Кількість же плазми змінюється незначно. Із

збільшенням оболонки клітини утворюється клітковина, з якої вона клітковини побудована. При цьому оболонка розтягується, а товщина не змінюється. Новоутворені плазмою волокна можуть накладатись, нашаровуватись на внутрішню стінку оболонки клітини. Цей спосіб росту оболонки дістав назву апозиції (від лат. *appositio* – додавання). Його відкрив Ф. Нолль під час забарвлення оболонки берлінською блакиттю у *Caulerpa*. Нолль спостерігав, що при дальшому рості каулерпи на посинілі шари клітковини оболонки з плазми відкладались нові, безбарвні волокна клітковини. Другий спосіб росту оболонки клітини, який відкрив К. Негелі у 1863 р. полягає в тому, що між волокна клітковини оболонки постійно проникають нові волокна клітковини, які утворились плазмою. Цей спосіб називається *інтусусценцією*. Тепер вважають, що обидва ці способи мають місце під час росту оболонок клітин, але перший переважає при значному потовщенні оболонки, а другий – при значному збільшенні розміру клітини.

Щоб визначити зони кореня, в яких є клітини, що перебувають на фазі розтягування, Ю. Сакс провів такий дослід. На корінці молодого проростка квасолі наносив тушшю позначки, розташовані на відстані 1 мм одна від одної. Після цього проросток вміщували у вологу камеру. Через добу вимірювали відстань між нанесеними позначками. В результаті дослідження з'ясувалось, що перші від кінця 1-2 позначки залишились на тій самій відстані одна від одної. Очевидно, тут клітини перебувають на ембріональній фазі, при якій клітини не збільшуються. Подальші 2-4 позначки значно віддалились одна від одної. Цю зону Сакс назвав зоною найбільшого росту.

Зона найбільшого росту є не лише в корені, а й у стеблі. В корені зона найбільшого росту коротка і близько розташована від кінчика кореня, тому корінець краще рухається через тверді шари ґрунту. В стеблі ж вона займає кілька сантиметрів і більш віддалена від верхівки. Тому, якщо на корені позначки слід робити через кожний міліметр, то в стеблі зону найбільшого росту можна добре виявити, наносячи позначки через кожні 0,5 см. Зона найбільшого росту стебла, як і повітряних коренів, може досягти іноді 10-20 і навіть 50 см.

Вище від зони найбільшого росту кореня нижче від неї в стеблі позначки знову не перемістяться і залишаться на тій самій відстані, на якій їх нанесено на початку дослідження. Тут клітини перебувають у третій фазі росту *внутрішньої диференціації*, коли не спостерігається збільшення ні кількості клітин, ні розміру їх. У цій фазі росту оболонки клітин можуть потовщуватись, а в деревних порід просякати лігніном, що робить їх нееластичними і нездатними до подальшого розташування. В цей самий період звичайні клітини перетворюються на різні спеціалізовані утворення, виникають різні спеціалізовані клітини – ідіобласти (від гр. ідіос – своєрідний; бласте – росток), утворюються різного типу пори тощо (рис. 4.2.).



Диференціювання клітин

З однорідних меристематичних клітин (вгорі) утворюються різноманітні клітини постійних тканин (зліва направо): палисадні, замикаючі, паренхімні, "зірчасті" клітини, судини і ситовидні трубки, склеренхімні волокна

Рис. 4.2. Внутрішня диференціація

<https://ppt-online.org/>

Пізніше, при вивченні точок росту пагона і бруньок, а також росту листків, меживузлів і колеоптилів спостерігали, що клітини тут часто діляться одночасно з розтягуванням. Тому буває важко відділити зони поділу розтягування клітин. Інакше побудований корінь – в апікальній частині його розташована меристема, потім, у напрямі до кореневої шийки, – зона розтягування, а ще вище клітини, які в довжину вже не ростуть. Як показали дослідження Н. Вагнера (1937), мітози не відбуваються у коренях цибулі на відстані 1010-1900 мкм (корені з цибулин – товщі) і 510-900 (корені рослин, що виростили з насіння - тонші), від кінчика кореня, у кінських бобів – 2050-500, вівса – 810-1000, пшениці – 750-1000, ячменю – 800-950, кукурудзи – 1680-1800 мкм. Інші вчені наводять подібні дані для гороху – 1500 мкм, тимофіївки 400 мкм тощо.

Доведено, що у коренів зони поділу клітини найменші. Відрізок, де відбувається розтягування клітин, характеризується значним збільшенням

розміру клітин. За цим відрізком розташована зона кореневих волосків, у якій розмір клітин не змінюється.

Довгий час вчені вважали, що меристема є найбільш метаболічно активною частиною кореня, бо інтенсивність дихання і поглинання мінеральних елементів, вміст білків і нуклеїнових кислот та інших сполук найвищі в меристемі. Ці результати підтверджуються спостереженнями над інтенсивністю різних гістохімічних реакцій у кінчиках кореня: на зрізах завжди виразно видно, що найінтенсивніше забарвлена меристематична зона і інтенсивність забарвлення різко падає в міру переміщення від меристеми. На основі цих даних склалось уявлення про наявність у коренях чіткого градієнта фізіологічних властивостей з максимумом у меристемі.

Якщо порівнювати окремі ділянки кореня при розрахунку на одну клітину, то матимемо інші результати: в клітинах зон розтягування процеси обміну інтенсивніші порівняно з клітинами меристеми, послаблення інтенсивності гістохімічних реакцій, пов'язане із значним розбавленням цитоплазми при розтягуванні, не свідчить про зменшення кількості різних сполук у клітині. Тому розтягування клітин слід розглядати не як пасивний, а як активний і дуже складний процес, що охоплює різні сторони метаболізму. З ростом клітин відбувається не тільки збільшення їх розмірів, а й накопичення речовин, що входять до складу клітинної оболонки і протоплазми. Звичайно під час росту співвідношення між ними змінюється: в меристемі протоплазма містить близько 60% усіх сухих речовин клітини, в зоні розтягування 40-50 і в зоні кореневих волосків менш як 40%.

Під час росту клітини змінюється насамперед вміст білка, кількість якого, як правило, при цьому збільшується. Синтез і накопичення білків у клітинах, що ростуть, тісно пов'язані з синтезом і накопиченням у них РНК. Вміст РНК також, як правило, збільшується від меристеми, через зону розтягування до зони кореневих волосків. Основна маса РНК у клітині міститься в рибосомах. Та об'єм протоплазми під час розтягування збільшується значно більше (можливе навіть 12-кратне збільшення), тому кількість рибосом в одиниці об'єму цитоплазми різко падає, зменшується також ступінь базofilії.

Під час розтягування значно збільшується вміст фосфору ліпопротеїдів, що входять до складу мембран ендоплазматичної сітки і органолів, а також кількість мітохондрій. Паралельно із збільшенням розміру ядра з ростом клітин вміст сухих речовин, білка, а також ДНК у них збільшується. Кількість РНК, навпаки, зменшується (основна маса РНК міститься у ядерці, розмір якого зменшується).

В ростучій клітині змінюється і вміст вуглеводів. Цукри в меристематичних зонах представлені тільки сахарозою; глюкози і фруктози майже немає. Речовини, що входять до складу оболонок, у цих клітинах синтезуються повільно. В зоні розтягування в клітинах переважають моноцукри - глюкоза і фруктоза, що супроводиться зростанням потенціальної активності інвертази. Загальний вміст цукрів у зоні розтягування значно вищий, ніж у клітинах меристеми, поряд з інтенсивнішим використанням цукрів на синтез білка дихання відбувається енергійний синтез целюлози і нецелюлозних

полісахаридів. У клітинах зони корневих волосків, де клітини уже не збільшуються, активно синтезуються речовини вторинної оболонки. Сахароза, що надходить сюди, використовується також на дихання. Вміст моноцукрів у клітинах, що вирости, більший, ніж у клітинах на фазі розтягування і вони представлені переважно глюкозою і фруктозою. Потенціальна активність інвертази в цих клітинах дещо менша.

Збільшується і оболонка клітин. Первинна оболонка меристематичної клітини кореня складається з пектинових речовин, целюлози і геміцелюлози, що містяться приблизно в однаковій кількості. Під час росту клітинної оболонки, очевидно, синтезуються не лише мікрофібрили целюлози, а й збільшується кількість матрикса - обводненого гелю. В клітинах, що розтягуються, відбувається швидкий ріст оболонки, який супроводиться збільшенням її маси. Порівняно з меристематичною клітиною тут різко збільшується кількість пектинових речовин (у 3-4 рази), геміцелюлоз (у 4,5 рази) і целюлози (у 5 разів). Нові целюлозні мікрофібрили відкладаються як внаслідок проникнення їх між наявними мікрофібрилами (інтусусцепція), так і в результаті утворення зсередини нових шарів (апозиція) мікрофібрил. При утворенні вторинної оболонки у клітин, що вирости, значно інтенсивніше синтезується целюлоза, внаслідок чого утворюються численні тісно розташовані мікрофібрили і гальмується утворення пектинових речовин і геміцелюлоз.

На відміну від більшості клітин кореня, для яких характерний ріст всієї поверхні, кореневі волоски, що утворюються як вирости епідермальних клітин, характеризуються верхівковим ростом. Кореневі волоски покриті первинною клітинною оболонкою, яка складається з двох шарів: внутрішнього, що є шаром целюлозних мікрофібрил, орієнтованих вдовж осі волосинки, і зовнішнього, в якому мікрофібрили утворюють розпушену сітку без певної орієнтації. Самий кінець кореневої волосинки покритий тільки зовнішнім шаром оболонки. Внутрішній шар росте в напрямі кінчика волоска в результаті відкладання зсередини нових мікрофібрил.

У ростучих клітинах також синтезуються різні сполуки, що відіграють важливу фізіологічну роль вітамінів і ростових речовин. Сполуки, важливі для метаболізму клітин, синтезуються у клітинах, що розтягуються, інтенсивніше, ніж у меристематичних. Наприклад, дуже збільшується вміст тіаміну, рибофлавіну, аскорбінової, нікотинової й індолилоцтової кислоти. У клітинах, що закінчили ріст, вміст цих речовин (за винятком аскорбінової кислоти) дещо знижується. У клітинах, що розтягуються, значно прискорюється дихання і відбувається ряд інших важливих змін. Закономірності, властиві для кореня, не можна повністю переносити на інші ростучі органи - стебло, листок, квітку, плід. Клітинам кожного з цих органів властиві свої фізіологічні особливості та закономірності на окремих етапах росту, що насамперед пов'язано з різними фізіологічними функціями кожного з органів.

Зони розтягування спостерігаються і при інтеркалярному рості, причому орієнтовані вони вниз і вгору від інтеркалярної меристеми. К.М. Ситник і Я. А. Дудинський довели, що нижні зони розтягування при інтеркалярному рості за

своїми розмірами невеликі: перехід від інтеркалярної меристеми до зони розтягування різкий, клітини швидко збільшуються і на відстані 1,5-2 мм від інтеркалярної меристеми досягають остаточних розмірів. Вважають, що від цієї частини меживузля відходять додаткові корені, бо якщо б інтеркалярна меристема була розташована безпосередньо над вузлом, то додаткові корені руйнували б її. Основою меживузля є в основному верхні зони: перехід від інтеркалярної меристеми до верхньої зони розтягування відбувається поступово, непомітно, розміри клітин збільшуються на протязі багатьох міліметрів.

Досліджено, що при розпусканні бруньок клітини інтенсивно діляться. Вони можуть в цей час навіть зменшуватись. У світлових листків черемхи за період росту кількість клітин нижнього епідермісу збільшується 525 разів, а площа клітин у 2 рази; у тінювих відповідно в 168 і 4,55 рази. У липи клітини листків розмножуються не так інтенсивно. У світлових листках число клітин нижнього епідермісу збільшується в 29,6 разів, а площа клітин у 20 разів, у тінювих відповідно – в 11 і 29 разів. У літературі є й інші дані про поділ клітин у листках рослин на початкових етапах їх росту.

Про причини росту є різні теорії. Першою була сформульована теорія пасивного росту. Сакс з'ясував, що восени, у зв'язку з підвищенням тиску кори на камбій і новоутворену деревину, утворюється деревина з товстими оболонками і вузькими клітинними порожнинами (так звана осіння, або літня, або пізня деревина). Він вважав, що тиск залежить від діаметра деревини і змінюється протягом вегетаційного періоду. Це призводить до утворення поздовжніх тріщин на корі, після чого тиск кори на деревину послаблюється і навесні знову утворюються елементи з тонкими оболонками і великими клітинними порожнинами (так звана весняна, або рання деревина).

Експериментально це питання вивчав Де Фріз. Він навесні накладав міцну пов'язку на ділянку 2-3-річної гілки і спостерігав, що пізня деревина під пов'язкою починала утворюватись дуже рано, ще тоді, коли в нормальній гілці відкладались крупні елементи, а річне кільце було значно тоншим. І навпаки, якщо поздовжні надрізи на корі робили літом і, отже, зменшували тиск кори на камбій і деревину, то в кінці літа утворювалась деревина подібна до ранньої, а річне кільце було ширшим. Проте Краббе, вимірявши тиск кори на деревину навесні і восени, не помітив істотної відмінності між ними.

Хеглер пробував розтягувати частину стебла, що росте. Для цього до верхівки стебла він прив'язував нитку, яку перекидав через блок, а на кінець її підвішував вантаж різної величини. Виявилось, що в результаті такого розтягування ріст не збільшувався, а, навпаки, зменшувався (до 60 %). Це зменшення спостерігалось ще на другий і третій день. Тільки пізніше ріст поступово прискорювався і ставав інтенсивнішим, ніж у контрольних рослин. Збільшення навантаження в цей момент знову призводило до гальмування росту.

Не можна пояснити причин росту і різною величиною тургору. Дослідження з вивчення впливу кислот, лугів і солей на ріст рослин показали, що прискорення росту спостерігається тоді, коли тургорний тиск падає

внаслідок збільшення проникності плівчастого шару протоплазми, і, навпаки, гальмується в разі посилення тургорного тиску.

Ф. Вент вимірював приріст базальної частини колеоптиля вівса і встановив, що протягом першої доби вона перестає рости і навіть дещо скорочується. Коли ріст цієї частини припинявся, у дослідних колеоптилів відрізали верхню частину, розташовану над вимірюваною частиною. На поверхню зрізу наносили пасту, що містила гетероауксин. Після цього ріст базальної частини відразу ж відновлювався, причому швидкість росту збільшувалась протягом 20 годин, а потім знову зменшувалась. Тому Вент дійшов висновку, що ріст рослин можливий лише при наявності ростової речовини. Пізніше було доведено, що ріст може відбуватись і без наявності фітогормонів, які є, власне, регуляторами росту.

Отже, ріст є однією з основних властивостей живого організму і відбувається на базі обміну речовин. Під час росту процеси асиміляції, що дають необхідний для цього будівельний матеріал, переважають над процесами дисиміляції. Під кінець онтогенезу, коли процеси дисиміляції домінують над процесами асиміляції, рослина дістає необхідний для росту матеріал з своїх запасних вмістищ. Нарешті, коли й вони будуть виснажені, - рослина відмирає.

Тема 4.2. Вимірювання росту рослин

Для вимірювання росту широко використовують спеціальні прилади ростоміри, ауксанометри (від гр. ауксано – росту, збільшую; метро – міра), які бувають різних типів. Проте всі вони побудовані за принципом переміщення довгого і короткого плечей коромисла (рис. 4.3.).

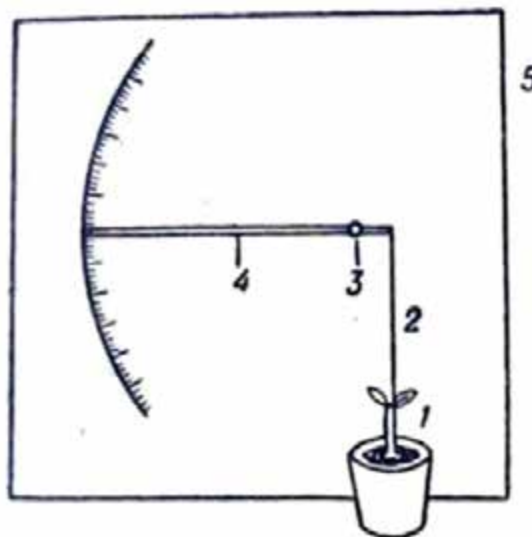


Рис. 4.3. Принцип роботи ауксанометра (схема):

1 – рослина; 2 – нитка; 3 – булавка; 4 – соломина; 5 – листок твердого паперу з нанесеною на ньому шкалою (за І.П. Білокін, 1975)

На цьому загальному принципі побудовані різні типи ауксанометрів, у яких приріст рослини записується автоматично. За допомогою спеціального

крескографа (від лат. *cresco* рости, виростати; гр. графо – пишу), побудованого на принципі відбивання світла від поверхні дзеркала, спостерігається збільшення величини росту $\cdot 10$ тис. разів. Пізніше побудували інший прилад – магнітний ауксанограф (від гр. ауксано росту, збільшую; графо – пишу), який збільшував покази величини росту в 10 і навіть 100 млн. разів. Щоб зрозуміти, наскільки збільшують прилади Боса зображення росту рослин, можна навести такий приклад. Коли швидкість слимака збільшити в стільки ж разів, в скільки ріст рослини збільшується ауксанографом Боса, то він переміщувався в 40 разів швидше, ніж точка на екваторі при обертанні Землі навколо своєї осі. Бос довів, що ріст відбувається не рівномірно, а у вигляді своєрідних пульсацій, віддалених одна від одної 6-хвилинними інтервалами. Пульсацію ростових процесів відзначали й інші вчені. Особливо добре її констатувати, використовуючи уповільнене кінознімання. Періодичність росту рослин можна вимірювати кількома годинами, світлим і темним періодами доби, в також сезонами року (рис. 4.4.).

Намочивши у воді насіння квасолі або іншої рослини і проростивши його, вимірюють кожного дня розмір корінця проростка.

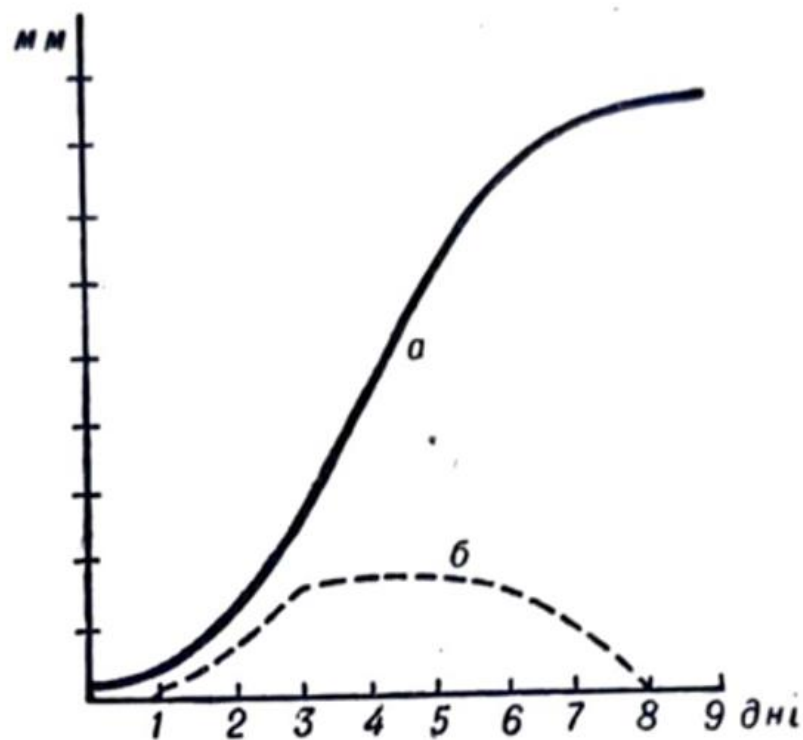


Рис. 4.4. Криві росту кореня кінських бобів: а – загальна довжина; б – щоденний приріст (за І.П. Білокінь, 1975)

Загальна довжина корінця спочатку змінюється повільно, потім швидше, а під кінець знову уповільнюється, аж поки зовсім припиниться, або інакше вона має 5-подібний характер (сигмоїдна крива). Цю зміну у розмірі рослин Ю. Сакс назвав великим періодом росту. Порівнюючи приріст тіла рослин за певні проміжки часу, дістанемо одновершинну або двоплевою криву. Ці дві криві, які ще називаються кривими росту, характерні для всього живого: для рослин і

тварин, для окремих органів їх і клітин. Наприклад, клітина після поділу спочатку росте повільно, потім швидше, а ще пізніше ріст її гальмується, і, нарешті, зовсім припиняється. Клітина знову ділиться або перетворюється в якийсь спеціалізований елемент. Так само змінюється під час свого розвитку кожний листок, стебло, гілка, квітка, плід і вся рослина однорічна чи багаторічна (в тому числі й ті, що живуть кілька десятків і навіть сотень років).

Саме такий характер росту у дерев не лише в висоту, а й у товщину. Цікавою щодо цього є пальма *Roystonea regia*, поширена на Кубі. Це представник однодольних рослин, яка не має камбію і стебло не потовщується, як у дводольних рослин. Стебло її при основі і біля верхівки тонше, а посередині товще, що свідчить про різний характер ростових процесів у неї на початку, всередині і під кінець онтогенезу.

Іноді спостерігаються деякі відхилення від такого характеру росту. Наприклад, Тукей і Юнг показали, що у плодів персика і вишні після того, як вони вже частково виростили (в цей час у них формується ендокарп, або «кісточка»), деякий час не збільшується об'єм, а пізніше знову починає збільшуватись. Крім того, у вегетативних органів поряд з річними циклами росту трапляються ще іноді переривчасті періоди росту. Наприклад, у пагонів груші, досліджуваних Рідом, може бути три таких цикли протягом одного вегетаційного періоду. Криві росту квітконоса кульбаби дещо відрізняються від описаних вище: ріст відбувається швидко під час розвитку квітки, значно уповільнюється після її розкриття, а потім знову прискорюється при дозріванні плодів.

Різні рослини та їхні органи ростуть з неоднаковою швидкістю. Звичайно найшвидше ростуть гіфи грибів, пилкові трубки, пилякові нитки, а також стебла ліан та бамбука. Наприклад, за даними Г. Сірпа, плодове тіло гриба *Dictyophora* за одну хвилину виростає на 5 мм, пилякові нитки злакових за той самий час - 1,8, листки бананів - 1,1, стебло бамбука 0,75, стебло гарбуза - 0,1, гіфи гриба *Botrytis* - 0,034 і більшість рослин 0,005 мм і менше. Л. Йост визначав ріст рослин за приростом (в процентах до довжини зони росту) за хвилину і дістав такий результат: пилкові трубки *Impatiens hawkeri* - 220%, *Impatiens balsamin* - 100, гіфи *Mycor stolonifer* - 118, гіфи *Botrytis* - 83, пилякові нитки злакових рослин - 60, стебло бамбука - 1,27, стебло *Bryonia* - 0,58% або інакше для подвоєння довжини пилякових ниток злакових рослин потрібно 2-3 хв, бактерій 20-30 коренів *Vicia faba* - приблизно 180 хв.

Перші згадки про початкові етапи формування листків знаходимо в працях М. Мальпігі і К. Ф. Вольфа. Вже їм було відомо, що листки завжди виникають як бічні вторинні вирости на верхівковій точці росту і ніколи не виникають на нижніх ділянках стебла, хоч вони здатні до інтеркалярного росту.

І. Г. Серебряков виділяє 4 основних типи формування елементів листкової пластинки: акропетальний (від акрос - верхівка; петомай - прямую, направляюць); базипетальний (від гр. базис - основа; петомай - прямувати, направляти) дивергентний (від лат. *divers* - в різні боки) і паралельний.

При акропетальному типі елементи листкової пластинки листочки складного листка, сегменти, лопаті і зубці простих листків - закладаються в

акропетальному порядку, тому чим вище на листку розташований його елемент, тим він молодший.

При базипетальному типі найстарішими частинками листкової пластинки є верхні; чим нижче розташовані елементи пластинки листка, тим вони молодші. При дивергентному типі найстарішими елементами пластинки в середні, формування пластинки починається з середини і відбувається в двох напрямках до верхівки листка і до його основи, тому чим далі частини листкової пластинки від середини її, тим вони молодші. При паралельному типі елементи листкової пластинки закладаються одночасно по всій середній жилці, отже, всі частини її одного віку.

Крім цієї послідовності при формуванні листкової пластинки послідовно закладаються також її елементи різного порядку. Наприклад, у *Tilia cordata* в процесі формування листкової пластинки меристема не розподіляється рівномірно по всьому краю листка, а локалізується в трьох основних точках росту листкової пластинки по боках її середньої жилки. Діяльність точок росту і утворення листкової пластинки у липи відбувається так: перша точка жилка. росту є верхівковою точкою росту пластинки і продукує в акропетальному порядку всі жилки порядку. Друга точка росту розташовується під верхівкою першої жилки II порядку. Вона також в акропетальній послідовності продукує жилки III порядку. Третя точка росту розташовується під верхівкою першої жилки III порядку і продукує акропетально жилки IV порядку.

Після виходу листка з бруньки характер його росту різко змінюється. На перших етапах внутрішньобрунькового росту листкова пластинка формується за рахунок крайової меристеми або окремих точок росту листка. Після виходу листка з бруньки основним, а в більшості дводольних єдиним способом стає поверхневий ріст листка, тобто поверхня пластинки в довжину і ширину росте рівномірно по всій площині. Так ростуть листки липи, черемхи, дуба, берези, кінського каштана, ліщини та ін. Листкові пластинки збільшуються в результаті збільшення розміру окремих клітин, а також кількості клітин внаслідок поділу. У деяких рослин, правда, листкові пластинки після виходу з бруньок ростуть інакше. Наприклад, у амарилісів ріст листкової пластинки після виходу її з бруньки відбувається внаслідок інтеркалярного росту, тобто коли безперервно утворюються дедалі нові і нові тканини біля основи листкової пластинки. Інтеркалярний ріст біля основи листка весною переважає також у злакових та деяких інших рослин (найтриваліший інтеркалярний ріст – протягом сотень і більше років – властивий листкам *Welwitschia mepirabilis*).

У папоротей морфогенез вай від початку до завершення відбувається за рахунок верхівкового росту. При цьому у деяких папоротей (види *Nephrolepis*, *Polypodium*, *Lygodium*) вайї зберігають здатність до верхівкового росту протягом кількох, а іноді й багатьох (у *Jamesonia nivea* – до 20) років, виявляючи річну періодичність росту, тотожну з ростом стебла в умовах (у перуанських папоротей межі між річними приростами вай відрізняються зменшеними дольками).

У рослин часто спостерігається відмінність у рості різних листків тієї самої рослини. Зокрема, дослідження над злаковими рослинами показали, що

найнижчі і верхні листки розвиваються в крайніх умовах, що обмежують їх ріст. Це й призводить до зменшення загальних розмірів цих листків порівняно з іншими проміжними листками. Крайні умови поступово ослаблюються і листки через ряд проміжних переходять одні в одні. Вивільняючись від одnobічних крайніх умов, кілька листків, які йдуть після нижнього, збільшують свої розміри як у довжину, так і в ширину (звичайно більш в ширину), потім ріст у ширину переважає і під верхівку їх довжина зменшується, а ширина збільшується. При інтенсивному рості збільшення листкової пластинки

У деяких дослідженнях спостерігали велику відмінність у рості окремих листків цукрових буряків, що дало підстави говорити про біологічну неоднорідність їх. Зазначено, що найбільш уповільнене листоутворення відбувається в 1-10 і 30-40 листках, найінтенсивніше ж – у 10-25 листках. Найменший період росту листків першої пари і листків останнього десятка (16 – 24 дні), найбільший – у 12-18 листків (38 – 53 дні). Найбільший темп наростання у 5-15 листків, що в 5-7 разів перевищує темп росту першої пари. Довговічність листків також неоднакова: найменша листків першої пари і найбільша 12-18 листків. Нарешті, перші і останні листки мають найменшу поверхню (16-34 см³), найбільшу ж поверхню мають 8-12 листки (213-330 см²).

Тема 4.3. Вплив зовнішніх чинників на ріст рослин

Процес росту рослин – результат ефективної взаємодії фізіологічних процесів у різних органах рослин, на які впливають найрізноманітніші зовнішні та внутрішні чинники.

Для росту рослин насамперед потрібні поживні речовини, які рослина бере з своїх запасних вмістищ, або які утворює в результаті фотосинтезу. Тому всі чинники, які гальмують фотосинтез, одночасно пригнічують і ріст рослин. Наприклад, нестача води в рослині, як правило, призводить до закривання продихів, що в свою чергу спричинює зменшення фотосинтезу. Крім того, в разі нестачі води в рослині осмотично індиферентний крохмаль перетворюється в осмотично діяльний цукор, що також призводить, за так званим законом дії мас, до гальмування фотосинтезу.

Не всі органи рослини однаково постачаються поживними речовинами. При нестачі цих речовин в одних органах рослина може брати їх з інших. У більшості рослин найактивніше використовують поживні речовини з інших органів плоди та насіння, що ростуть. Тому, в дуже урожайні роки річні кільця у дерев тонші і приріст вегетативної маси менший. Вегетативні ростові бруньки у цьому відношенні стоять на другому місці, а ще далі квітки і, нарешті, на останньому місці – щойно зав'язані плоди. Саме їх найбільше опадає в разі нестачі поживних речовин.

У природі завжди різні чинники діють сукупно і в разі нестачі якогось із них він може певною мірою бути замінений іншими чинниками. Так, плаун-баранець (*Lycopodium selago*) – лісова тіньовитривала рослина середніх широт – може рости в горах і на північних відкритих добре освітлених місцях, де зниження температури компенсується збільшенням кількості світла. Повне сонячне освітлення може порушити водний режим рослин швидше у сухому,

ніж у вологому повітрі. Тому верес, який росте в умовах вологого клімату на заході на відкритих місцях, просуваючись на схід у континентальніший клімат, переходить у ліс і перетворюється з світлолюбного в тіньовитривалий.

У природних умовах вплив різних чинників на ріст рослин часто поєднується і результат, значною мірою, залежить від сили цих чинників. Так, вплив світла й темряви найчастіше комбінується з впливом добового коливання температури і вологи. Влітку теплі і темні ночі особливо сприятливі для росту рослин, весною ж, навпаки, у зв'язку із значним зниженням температури вночі ріст відбувається, в основному, вдень. З цієї самої причини швидше ростуть вдень і рослини, що ростуть високо в горах, або так звані альпійські рослини та рослини, які ростуть на півночі – арктичні рослини, або рослини так званих холодних ґрунтів психрофіти (від гр. психрія холод, фітон – рослина).

У альпійських рослин ріст гальмується також під дією інтенсивного світла, яке має більше фіолетових та синіх променів. В арктичних рослин світло впливає протягом довгого або й безперервного дня, саме тому у них досить короткий вегетаційний період. Арктичні рослини характеризуються малим ростом, вкороченим стеблом та густо розгалуженими гілками, що приводить до утворення подушковидної форми їх тіла.

Наскільки повільний ріст у арктичних рослин видно з такого прикладу. У верби полярної (*Salix polaris*) на початку серпня, коли пагін досягає своєї повної зрілості, довжина його дорівнює не 1-5 мм і лише в деяких випадках він досягає 9-11 мм. Кожний річний пагін звичайно несе 2-3 листки 7-11 мм завдовжки 15-11 мм завширшки.

Висота рослин у міру просування на північ зменшується. Так, коли на Скандинавському півострові *Matricaria inodora* досягає 15-70 см, то в Арктичній області – 5-12 см. *Solidago virga aurea* відповідно 30-70 і 7-10 см, *Pedicularis palustris* 30,5-70 і 5-7,5 см, *Epilobium palustre* -30,5-70 і 5 см. У альпійських рослин також з підняттям їх над рівнем моря, зменшується висота. У зв'язку з цим кількість деревних рослин на одиницю площі в міру підвищення над рівнем моря у бука збільшується, а у сосни зменшується.

Світло є важливим чинником живлення зелених рослин, а отже, воно посередньо впливає й на ріст. Проте, світло не є абсолютно необхідним чинником росту. Наприклад, так звані гетеротрофні (від гр. гетерос – інший, різний; трофе – живлення) організми (тварини, гриби, бактерії) можуть рости і без світла, навіть на деякі з них світло впливає згубно. Корені вищих автотрофних (від гр. аутос – сам; трофе – живлення) – рослин, позбавлені хлорофілу, так само оптимально ростуть у темряві. Також, у темряві можуть розвиватися і рости квіти, плоди та насіння. Наприклад, з цибулин тюльпанів, гіацинтів у темряві виростають стандартні квіти, які не містять лише хлорофілу. Світло не впливає і на ріст пилоквих трубок, а ріст ризоїдів виводкових бруньок маршанції (*Marchantia*) – навіть гальмує (рис. 4.5.).

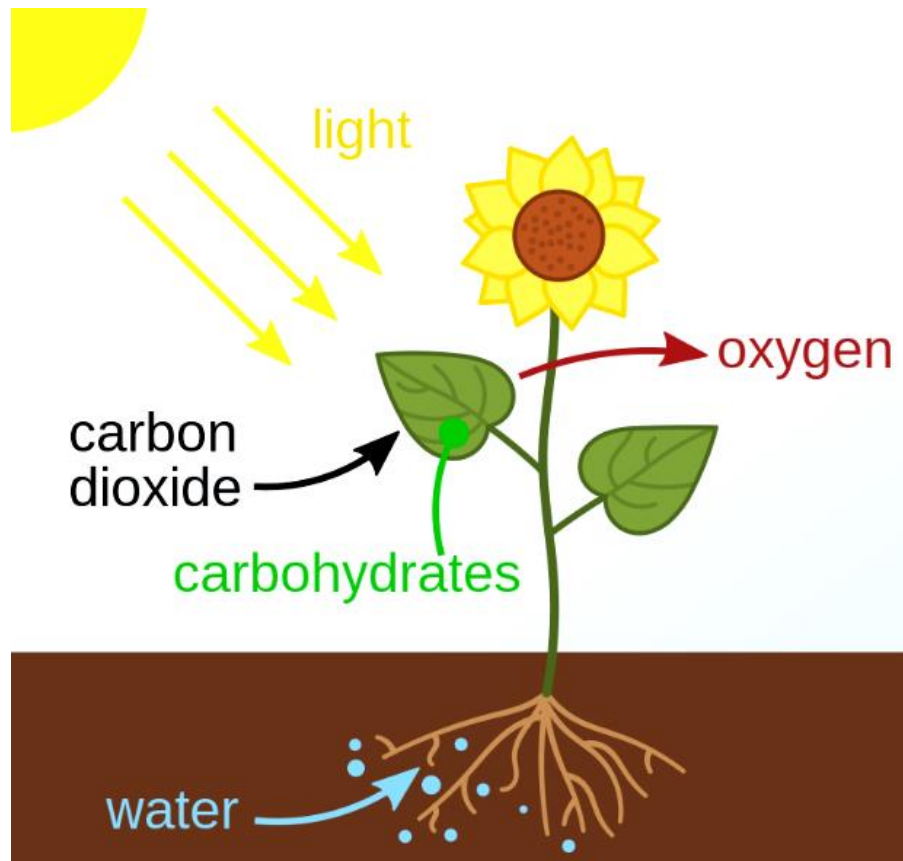


Рис. 4.5. Світло як важливий чинник для зелених рослин
<https://vseosvita.ua/>

Зелені вегетативні органи, в яких утворюються органічні речовини з неорганічних, без світла різко змінюють свій зовнішній вигляд, утворюючи так звані етіольовані (від гр. етіоле – робити блідим, кволим) рослини. У дводольних та деяких однодольних (наприклад *Tradescantia*) рослин без світла дуже витягується стебло з непромірно довгими меживузлями, листки їх і особливо листкові пластинки залишаються недорозвиненими. У більшості однодольних, навпаки, дуже витягуються листки (у злакових – листкові піхви), а стебло залишається недорозвиненим, як і у рослин, що ростуть на світлі. Така реакція на відсутність світла цілком доцільна. Завдяки витягуванню своїх органів рослини швидше потрапляють у сприятливі для них умови освітлення. Якщо б при відсутності світла у цих рослин утворювались стандартні органи, то вони витратили б усі поживні речовини, які в них були, і загинули, не досягши світла. Характер етіоляції у різних рослин неоднаковий: у картоплі, наприклад, дуже витягується стебло, на якому утворюються лише зачаткові листки, у буряка ж листки бувають лише трохи менші, ніж листки рослин, що виростили на світлі. У витких ліан і в звичайних умовах утворюються досить довгі меживузля, темряві Вони лише незначно видовжуються. У рослин, які розвиваються в темряві, змінюється анатомічна будова: у них незначна диференціація тканин (особливо слабо розвиваються механічні елементи), подібно до водяних рослин домінує паренхіма. В злакових, що ростуть на ґрунтах, багатих на азот, виростає багато соломин добре розвиваються листки, які затіняють нижні частини стебел, де певною мірою виявляється етіоляція.

Тому механічні елементи нижніх частин стебел розвиваються слабо, що і зумовлює вилягання хлібів.

Етіоляцію не слід пов'язувати лише з відсутністю хлорофілу чи з фотосинтезом. На світлі в атмосфері, позбавленій CO_2 , коли фотосинтез не відбувається, виростають нормальні рослини. Етіоляцію спостерігають і у деяких рослин, позбавлених хлорофілу, зокрема у грибів. У *Coprinus* етіоляція виявляється у значному видовженні ніжки і малому розвитку шляпки плодового тіла, а у деяких представників цього роду, (*Coprinus stercorarius*, *C. niveus*, *Lentinus lepideus*, *Xylaria hypoxylon*) в темряві вона може й зовсім не утворюватися. У *Pilobolus microsporus* спорангієносець замість звичайної довжини 5-8 мм на світлі в темряві досягає 200 мм, причому спорангій зовсім не утворюється. Цікаво, що іноді при сильному освітленні протягом 15 хв, спорангієносець припиняє видовжуватись і утворюється спорангій.

Світло на рослину впливає як подразник. На це вказував дослід, під час якого освітлювали рослини слабким розсіяним світлом по 1,5-3 години на добу, а решту часу тримали їх в темряві. В результаті виростили рослини з листками без хлорофілу, які розвивались в 4-7, навіть у 10 разів сильніше, ніж листки рослин, що весь час перебували в темряві. Проростки проса і сорго утворюють під пірцем (колеоптилем) досить значне підсім'ядольне коліно (гіпокотиль, від гр. гіпо-під котиледон – чаша). Якщо насіння цих рослин потрапляє глибоко в ґрунт, то гіпокотиль росте доти, поки пірце не вийде на поверхню ґрунту і не зазнає впливу світла, тоді ріст його припиняється (рис. 4.6.).



Рис. 4.6. Роль світла на ріст рослин як подразник

<https://www.turito.com/>

Якщо у рослини перші стадії розвитку відбувалися на світлі, а після цього рослина потрапила в темряву, то органи, що були закладені на світлі, ростуть майже як стандартні рослини. Наприклад, з листових бруньок, що заклались

на світлі, в темряві виростають більші листки, ніж ті, що виростають з бруньок, закладених у темряві.

Якщо залишити рослину на світлі, а окрему гілку її затемнити, то на гілці можна спостерігати зміни, які були б на всій рослині, якщо її помістити в темряві.

Встановлено, що вплив різної інтенсивності світла на ріст рослин неоднаковий. Наприклад, у проростків гороху при збільшенні інтенсивності світла ріст гальмується. У рослин квасолі він пригнічується як на повному сонячному світлі, так і при сильному затіненні, максимальне ж подовження стебла у квасолі спостерігається при затіненні на 50%. Соняшник же найкраще росте при 100% денному освітленні, а навіть незначне його зменшення негативно позначається на нагромадженні сухої речовини, рості у висоту та розмірі листків (подібне спостерігається у шпинату, моркви та ін.).

На ріст рослин значно впливає також тривалість освітлення. Деякі рослини (наприклад шовковиця чорна, бавовник, верба, смородина чорна тощо) ростуть тим швидше, чим довший день. У таких рослин, як біла акація, мигдаль, швидкість росту збільшується пропорційно збільшенню довжини дня лише до певної межі. Далі із зростанням тривалості дня для цих рослин призводить до уповільнення росту, а при безперервному освітленні деякі з них (наприклад помідори) майже повністю припиняють ріст. Вплив різної тривалості дня на ріст рослин значно залежить від температури (рис. 4.7.).



Рис.4.7. Роль світла на ріст рослин

<https://lrc.com.ua/>

При формотворенні основну роль відіграють світлові хвилі малої довжини (сині і фіолетові). Так, якщо поставити дослід з вирощенням рослин

під дзвоном Сенеб'є, між стінками якого налито аміачного розчину окису міді, через який проходять промені правої – синьо-фіолетової частини спектра, то рослини, що виростуть у цих умовах нагадуватимуть рослин, що виростили на світлі, або коли між стінками дзвону Сенеб'є налита вода. Якщо ж поставити подібний дослід з вирощування рослин в умовах лівої червоно-оранжевої частини спектра (між стінками дзвону Сенеб'є налити розчин двохромовоокислого калію), то рослини, що виростуть у цих умовах нагадуватимуть рослин, що виростили у темряві (на відміну від них вони матимуть хлорофіл). На ріст та розвиток рослин впливає також інфрачервоне проміння з довжиною хвилі близько 735 мкм (далеке червоне світло). Встановлено, що воно не впливає на морфогенез, якщо освітлювати ним рослини після темряви, але дуже сильно діє, якщо його застосовувати після експозиції рослин на червоному світлі. В цьому випадку ефект червоного світла знімається повністю або майже повністю. Якщо після далекого червоного світла рослини повторно освітлювати червоним світлом, то знову виникають зміни росту та розвитку, характерні для червоного світла. Отже, реакція рослин на червоне далеке червоне світло – повністю зворотна.

Морфогенетична реакція на інфрачервоне, далеке червоне світло, проявляється при дуже короткочасних експозиціях до 1-2 хвилин – при освітленні як зелених, так і етіологованих рослин, при низьких температурах, тобто в умовах, які практично виключають процес фотосинтезу.

Існує припущення про існування другої фотореакції, яка бере участь у регуляції росту – реакції у ділянці синього і далекого червоного світла, що відбувається при досить високій інтенсивності монохроматичного світла, тому вона називається ще високоенергетичною реакцією. Реакція, що контролює проростання насіння, ріст стебла та інші морфогенетичні ефекти, виявляється особливо відчутно у ділянці далекого червоного і дещо менше синього світла.

Виходячи з оборотності дії червоного та далекого червоного світла, припускається, що існує пігмент, названий фітохромом і який представлений у рослині у двох якісно відмінних формах, кожна з яких засвоює або червоне, або далеке червоне світло і приводить до ряду біохімічних перетворень, властивих саме цій його формі. Перехід однієї форми фітохрому в іншу відбувається внаслідок освітлення рослини відповідною радіацією. Так, при освітленні далеким червоним світлом або при вирощуванні рослин у темряві, вони містять фітохром з максимумом поглинання близько 660 мкм, при освітленні ж червоним світлом він перетворюється на форму, яка адсорбує світло головним чином у ділянці далекого червоного світла – близько 730 мкм.

Вчені вивчали також вплив ультрафіолетових променів на ріст рослин. При цьому було добуто неоднакові і часто протилежні результати. Це пов'язано з використанням різних УФ джерел, доз, великою різноманітністю фізіологічних реакцій, які викликає УФ радіація, різною реакцією рослин на УФ радіацію залежно від інтенсивності видимого світла, при якому вирощується рослина, та неоднаковою реакцією рослин, що перебувають на різних фазах розвитку. Встановлено зокрема, що реакція рослин на УФ радіацію змінюється

з проходженням рослинами різних етапів росту і розвитку, а особливо чутливі до УФ радіації молоді рослини та рослини, що перебувають у фазі цвітіння.

Дуже важливим чинником, що впливає на ріст рослин, є температура. Поділ клітин значно залежить від температури. Залежність між ростом та температурою виражається кривою з трьома так званими кардинальними (від лат. *cardinalis* важливий) точками температури: *мінімальною* – тією найнижчою температурою, при якій уже починається ріст, *оптимальною* температурою, при якій рослина росте найшвидше, і *максимальною* найвищою температурою, при якій ще відбувається ріст рослин. Абсолютна величина цих окремих точок неоднакова у різних рослин і залежить від пристосування рослин до умов навколишнього середовища. В певних межах (у більшості рослин приблизно від 0 до +35°) вплив температури підкоряється правилу Вант-Гоффа: із зміною температури на +10°C швидкість хімічної реакції змінюється вдвоє. Після +35-40° ріст рослин уповільнюється і падає майже до нуля. Оптимальна температура для росту не завжди є найбільш сприятливою для розвитку рослин. Якщо рослини розвиваються при температурі, при якій вони ростуть найшвидше, то вони можуть вирости ослабленими, з меншою кількістю механічних елементів тощо. Тому на відміну від суто *фізіологічного*, або так званого *абсолютного оптимуму*, розрізняють ще *гармонійний* оптимум, при якому виростають найміцніші рослини. Гармонійний оптимум не є постійною величиною для всього періоду розвитку рослини. Він безперервно змінюється від проростання насіння до цвітіння і дозрівання. У більшості однорічних рослин можна встановити таке загальне правило, що на більш ранніх фазах розвитку цей оптимум лежить нижче, ніж на пізніших. Це правило збігається з природною зміною температури від весни до кінця літа, що можна розглядати як пристосування рослин до цих змін температури, яке виробилось в результаті тривалої еволюції рослинних організмів. Однак це правило не поширюється на так звані термофільні організми та рослини тропічного походження (рис. 4.8.).

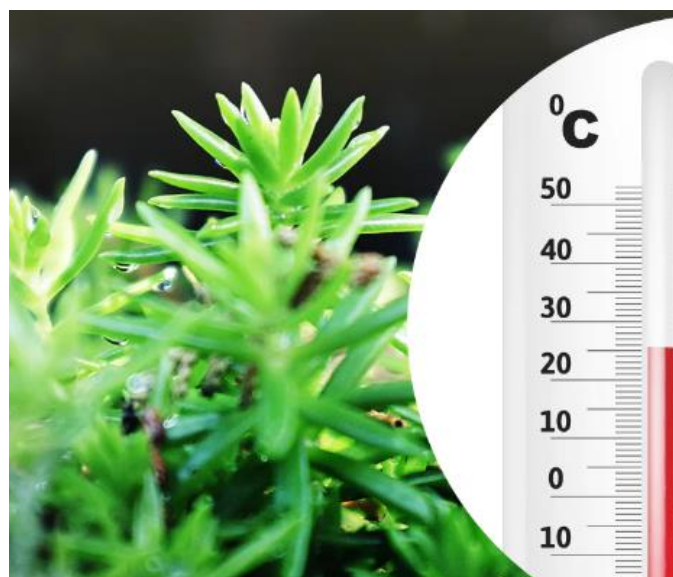


Рис. 4.8. Температура, як чинник, що впливає на ріст рослин

<https://lrc.com.ua/>

Гармонійний оптимум для росту неоднаковий у стебла і кореня рослини. У кореня він, як правило, нижчий. Це пояснюється тим, що температура ґрунту нижча, ніж повітря. Для підтвердження цього наводяться такі три приклади. Якщо цибулину гіацинтів, тюльпанів тощо помістити в умови підвищеного теплового режиму, то листки розвиватимуться інтенсивніше, ніж коренева система. Тому при вигонці цих рослин цибулини тримають при знижених температурах до доброго укорінення рослин і лише після цього підвищують температуру, щоб вигнати квіткову стрілку. Після розвитку стрілки ще підвищують температуру з метою інтенсивного розвитку листового апарата. Висаджування насінників капусти на теплі ділянки, з добре прогрітим ґрунтом, без мульчування поганим провідником тепла призводить до сильного розвитку надземної частини і репродуктивних органів капусти і слабого розвитку кореневої системи. Тому насінники з добре розвиненою надземною частиною - квітконосами, квітками і навіть плодами іноді раптом засихають. У південних районах, де весняний період досить короткий і з високими температурами, висаджені навесні плодові дерева часто гинуть, якщо не вжити відповідних агрозаходів. Це відбувається тому, що при теплом повітрі інтенсивно розвивається надземна частина і запізнюється розвиток кореневої системи. Це призводить до утворення численних дрібних листків і раптового в'янення їх на саджанцях. Тому при весняному висаджуванні слід застосовувати комплекс засобів, що поліпшують температурний режим ґрунту для розвитку кореневої системи (рослини після висаджування відразу підгортають). З дальшим підвищенням температури повітря і ґрунту для поліпшення водного режиму і зниження температури ґрунту застосовують мульчування навколостовбурних кругів і поливання дерев. З метою гальмування темпу розвитку листків одночасно знижують температуру в окремих ділянках самих рослин обгортанням стовбурців поганим провідником тепла соломою, комишем, мохом та ін. Подібні заходи тепер широко використовуються в усіх наших містах та селах при пересадці дерев значного віку.

Важливим чинником для росту рослин є також вода. В разі дефіциту води в рослині гальмується фаза розтягування, яка відбувається головним чином завдяки надходженню води в клітину. Хоча сьогодні більшість вчених дотримується погляду, що ріст рослин викликається в основному активним ростом оболонки клітин, а в результаті цього має місце більше поглинання води. В усякому разі менший розмір рослин, що виростили в умовах нестачі води, з результатом меншого розтягування клітин, більш швидкої диференціації їх.

Водний дефіцит у меристематичних зонах істотно послаблює ріст рослин. Вчений Гейтс вивчав вплив короткочасної нестачі води на кожний з перших восьми листків. При цьому виявилось, що нестача води не впливає на сім'ядолі, але гальмує ріст усіх восьми листових пластинок. Одночасно встановлено, що листки різного віку неоднаково чутливі до напруги вологи. Незважаючи на те, що ріст молодих листків гальмується, найсильніше їх нормальний стан відновлюється швидше, ніж у інших органів. Ріст старих листків гальмується слабше, проте дія нестачі вологи у них проявляється довше. Нестача вологи в ґрунті значно гальмує також ріст коренів рослин.

Посуха впливає також на ріст дерев у висоту і товщину, але характер її дії в обох випадках неоднаковий. Це пояснюється тим, що багато дерев ростуть у висоту, головним чином, за рахунок запасних вуглеводів, а ріст у товщину в основному залежить від продуктів фотосинтезу, що відбувається одночасно з ростом. Як правило, ріст у висоту у багатьох дерев відбувається лише протягом невеликого початкового періоду безморозної пори року (60 або й менше днів). Видовження пагонів у більшості листопадних форм починається до розпускання бруньок і закінчується десь в середині червня, тобто тоді, коли інтенсивність фотосинтезу у листках досягає сезонного максимуму. Отже, при апікальному рості дерев використовуються головним чином запасні поживні речовини, тобто утворення пагонів у багатьох дерев є дворічним процесом. Зимові бруньки містять усі задатки пагонів майбутнього року, які видовжують ся за рахунок розростання меживузля. Ріст у висоту найчастіше більше залежить від умов попереднього року, ніж умов року розвитку пагонів з бруньок. Однак ріст дерев у товщину гальмується посухою у тому самому році. Зокрема, забезпеченість дерев водою впливає на час закладання осінньої деревини, тривалість періоду її утворення і чіткість переходу від весняної до осінньої деревини. Нестача води прискорює початок формування осінньої деревини, а тривала посуха скорочує період її утворення. Посуха впливає також на максимальний приріст осінньої деревини в стовбурах дерев. В роки з сприятливими погодними умовами максимум осінньої деревини розміщується ближче до основи стовбура, а в посушливі роки цей рівень переміщується вгору по стовбуру.

Навіть короткочасне в'янення рослин впливає на ріст її, при цьому зменшується вага листків щодо ваги стебла. Але якщо при надходженні води в рослину інтенсивність росту збільшується, то інтенсивність фотосинтезу ще деякий час може залишатись зниженою, що й призводить до значного зниження урожаю (рис. 4.9.).

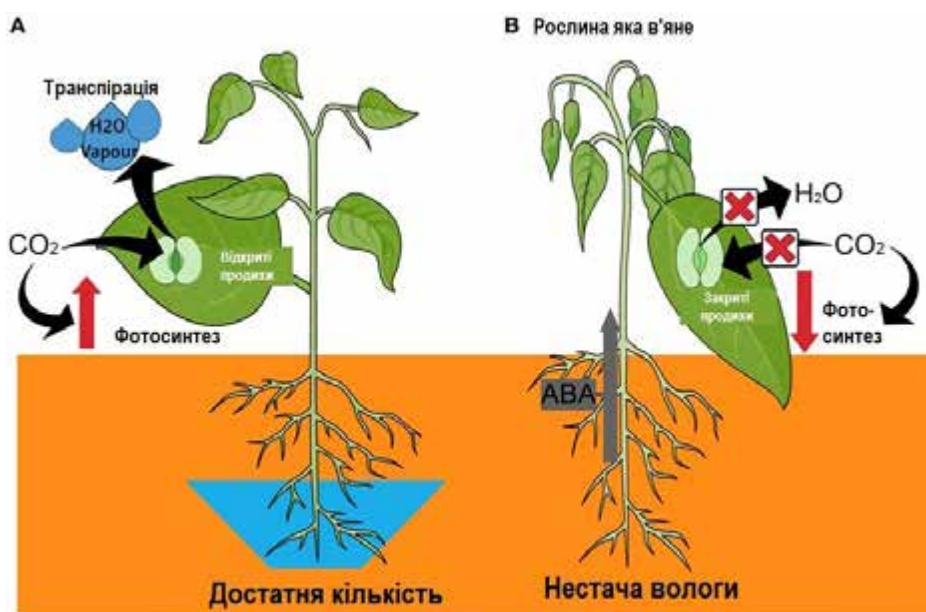


Рис. 4.9. Вплив вологи на ріст рослин

<https://www.eridon.ua/>

Корені більшості рослин ростуть тільки у дуже вологому ґрунті, порожнини якого містять повітря, насичене водяною парою, а осмотичний тиск ґрунтового розчину на перевищує 10-15 ат. В сухішому ґрунті корені більшості рослин уже не можуть рости. Тут ростуть лише корені деяких пустинних рослин, що мають на своїй поверхні захисну тканину. Надземні ж частини рослин перебувають завжди в значно сухішому повітрі, відносна волога якого вдень регулярно падає до 50-60%, а часто і значно нижче. Ріст стебла можливий лише тому, що ембріональна тканина точок росту його не контактує з сухою атмосферою, вона прикрита листочками.

У однорічних злакових рослин спочатку відбувається лише ембріональний ріст стебла і тільки тоді, коли будуть повністю підготовлені всі меживузля стебла і суцвіття, настає фаза *розтягування*, або так зване *стеблуння* (вихід у трубку). В цей період рослина потребує багато води і дуже погано переносить її нестачу. Цей період назвали критичним періодом відносно води. Доведено, що на початку розвитку будь-якого органа (стебла, окремого листка, квітки) має місце його критичний період відносно води, тому нестача призводить до зменшення розмірів цього органа.

Важливим фактором для росту рослин є також кисень необхідний для дихання ростучих частин рослини, що дає їм енергію, потрібну для всіх фізіологічних процесів, у тому числі для поглинання поживних речовин рослиною і для її росту (рис. 4.10.).

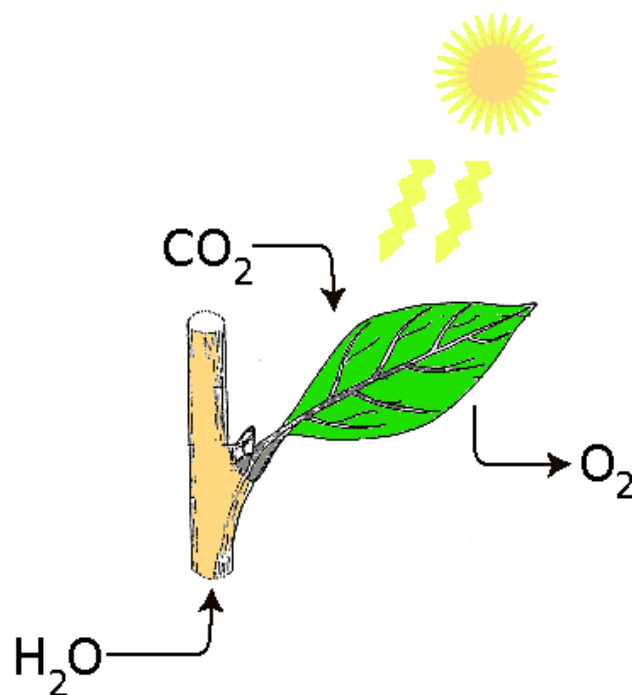


Рис. 4.10. Кисень як чинник для росту рослин

<https://uk.wikipedia.org/>

Потреба в кисні у вищих рослин виявляється порізно: проростки соняшника, кукурудзи, *Glyceria luitans*, цілком ймовірно, можуть рости певний час (до 48 годин) і в абсолютно безкисневому середовищі, причому підвищення температури до 25° і додавання цукрів сприяють росту в цих умовах. В середині

великих м'ясистих плодів, бульб та ін. окремі клітини й тканини ростуть, звичайно, при мізерному доступі кисню. Серед нижчих рослин відомі окремі анаеробні організми, присутність кисню для росту яких навіть шкідлива.

На ріст рослин впливають *отруйні речовини*, наприклад солі важких металів (мідні, свинцеві, срібні та ін.), а також численні органічні речовини (ефір, хлороформ, толуол тощо). Більшість навіть отруйних речовин у малих концентраціях стимулюють ріст рослин. Наприклад, якщо прийняти за одиницю вимірювання розчин однієї грам-молекули в 100 000 л води, то фенол (карболова кислота) в концентрації від 100 до 200 таких одиниць припиняє ріст рослин у водних культурах, а в концентрації від 4 до 8 одиниць стимулює його. Слабша отрута етиловий спирт – стимулює ріст у концентрації від 25 до 75 одиниць і припиняє в концентрації від 2500 до 7500 одиниць. Сила отруйної дії цих речовин залежить також від середовища. В піщаних культурах отруйність багатьох речовин помітно знижується, в ґрунтових же культурах рослина здатна витримувати дози отруйних речовин, які в сотні разів перевищують ті, що припиняють ріст рослин у водних культурах. Це пояснюється адсорбційною здатністю ґрунту, яка зв'язує на поверхні своїх часточок отруйні речовини (рис. 4.11.).



Рис. 4.11. Вплив отруйних речовин на ріст рослин

На ріст рослин впливають різні гази. За своєю фізіологічною дією розрізняють три групи газів (рис. 4.12.).

1. Гази слабкої шкідливої дії. Вони високоактивні як анестезуючі, а також змінюють характер росту рослин (ненасичені газоподібні сполуки вуглецю: етилен, ацетилен, пропілен і вуглекислота).

2. Гази, що впливають на рослини в основному отруйно інколи вони слабку фізіологічну активність (синильна кислота, пари ртуті, сірчаний газ, аміак, хлор і сірководень).

3. Газоподібні речовини виразно стимулюючої дії, які використовують для переривання періоду спокою.



Рис. 4.12. Вплив газів на ріст рослин
<https://lotus.net.ua/komnatnye-rasteniya>

Найбільше досліджень з впливу різних газів на рослини проведено з етиленом.

Давно вже звернули увагу, що дерева на вулицях великих міст гинули з невідомих причин. Навесні дерева розвивались із запізненням, а іноді спостерігалось передчасне опадання листків. Досліджено дію різних газів, що входять до складу світільного газу, на зміни вертикального напрямку росту проростків гороху в лабораторній темній кімнаті і зроблено висновок, що фізіологічно активними серед них є ацетилен і етилен. Доведено також, що різні концентрації етилену діють неоднаково: 1) проростки гинули; 2) залишались кривими, але замість росту в довжину потовщувались; 3) змінювався напрям росту проростків; 4) посилювався ріст.

Встановлено також, що фізіологічна активність вуглеводнів етиленового ряду (етилен – $\text{CH} = \text{CH}_2$, пропілен - $\text{CH} - \text{CH} = \text{CH}_2$, бутилен $\text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_3$) швидко зменшується із збільшенням довжини ланцюга (ацетилен – $\text{CH} = \text{CH}$ займає проміжне положення між етиленом і пропіленом).

Ці гази у різних рослин викликають найрізноманітніші реакції. Найпоширенішою із них є епінастія (від гр. епі – на нассо – ущільнювати, закривати) листків. В. Крокер із співробітниками показали, що під дією світільного газу листки помідорів, що закінчили ріст, згинаються біля основи черешків. Якщо такі рослини винести на чисте повітря, то старі листки відновлюються частково, а молоді повністю. Це відбувається внаслідок посиленого росту нижнього боку черешка, або *гіпонастичного* росту (від гр. гіпо – під; нассо – ущільнювати, закривати). У рослин, які вирощуються на кліностаці, що обертається навколо горизонтальної осі, під дією етилену спостерігається значно слабша епінастія листків, ніж у рослин, що ростуть нормально. У рослин, перевернутих верхівкою вниз, етилен майже або й зовсім не викликає епінастію.

Етилен викликає також проліферацію (від лат. proles паросток, нащадок; fero – нести) – новоутворення рослинних тканин діленням клітин, особливо камбію, стебла і кореня, а також збільшення розміру клітин.

Поширеною реакцією є також опадання листків, квіток і плодів в результаті посиленого росту клітин відокремлюючого шару. Це, зокрема, добре спостерігається у *Crassula arborescens* (опадають листки) та *Salvia* (опадають пелюстки квіток). Під дією етилену троянди скидають листки, плоди горіху волоського звільняються від м'якуша та ін.

С. Даут під дією етилену спостерігав повне заціпеніння *Coleus*, яке повністю зникало після видалення газу. Листки *Mimosa pudica* під дією етилену втрачають здатність реагувати на дотик і нагрівання (після видалення етилену рослини реагують нормально, хоч і спостерігаються деякі пошкодження). В. Крокер порівнював дію різних газів на заціпеніння рослин і дійшов висновку, що вони розташовувались у тій самій послідовності, що й при викликанні епінастії листків та згинання проростків гороху. Якщо рослини протягом чотирьох тижнів обробляти етиленом концентрацією 0,1 10-%, то швидкість росту в довжину зменшиться у конюшини на 50, у помідорів та гречки – на 40 і у пшениці – на 25%.

Ф. Денні спостерігав також зміни в забарвленні 25%. Дозріванні плодів у цитрусових під дією етилену. Розроблено способи прискореного дозрівання найрізноманітніших плодів: томатів, динь, яблук, груш, айви, лимонів, персиків, абрикосів, слив. І доведено, що етилен, який утворюється в плодах, є природним стимулятором дозрівання.

Е. Гарвей ретельно вивчав вплив етилену на обмін речовин у рослинних тканинах. Він довів, що при обробці рослин етиленом в них збільшується вміст низькомолекулярних розчинних речовин і витрачаються високомолекулярні розчинні і нерозчинні сполуки. Вміст цукрів, амінокислот, амідів, поліпептидів, ліпоїдів, та інших сполук, розчинних у гарячій суміші спирту і ефіру, зростає при цьому на 8-9%. Одночасно він спостерігав, що вміст нерозчинних сполук білків, крохмалю, клітковини, лігніну тощо, відповідно знижується. Сумарний вміст амінокислот і амідів збільшується, а вміст поліпептидів зменшується.

Г. Моліш опублікував працю про алелопатію (від гр. аллелон взаємний; патос – страждання), де показав вплив одних рослин на інших. Це відбувається завдяки виділенню різних газоподібних речовин, а також розчинних кореневих виділень, під дією яких гальмується або стимулюється ріст інших рослин. Вуглекислота (CO_2) – допустимий продукт дихання при значному скупченні її в атмосфері також викликає спочатку припинення росту, а потім і ряд інших процесів. Отже, під дією вуглекислоти рослина впадає в стан анабіозу. Тепер це явище використовують під час зберігання плодів та овочів протягом тривалого часу.

У герметично закритих посудинах, заповнених вуглекислотою, зберігаються органи рослин, що характеризуються зниженою життєдіяльністю. Навпаки, енергійно ростучі частини рослин, наприклад, насіння, що проростає, в атмосфері вуглекислоти швидко відмирає з ознаками отруєння продуктами своєї життєдіяльності.

З шкідливих газів найбільше вивчався вплив сірчистого ангідриду. Встановлено, що рослини, найчутливіші до цього газу, пошкоджуються при концентрації $0,46 \cdot 10^{-6}$ протягом 7 годин, тоді як тварини переносять

концентрацію $33 \cdot 10^{-6}$ протягом 500 годин. Сірчистий ангідрид викликає відмирання паренхіми листків середнього віку (плямистість), що призводить до ослаблення фотосинтезу.

Хлор на рослини діє подібно до сірчистого ангідриду, тільки середні листки пошкоджуються при ще менших концентраціях. Сірководень пошкоджує рослини при концентрації $40-400 \cdot 10^{-4}$. Цей газ спричиняє в основному відмирання молодих листків і стебел.

Досліди, проведені в потоці повітря, показали, що зелені листки дуже чутливі до дії газів, які за своєю токсичністю утворюють такий ряд: $Cl > SO_2 > NH_3 > HCN > H_2S$. Зелені стебла більш стійкі до цих газів, ніж листки, причому с 5 га- зів на стебла діють майже однаково.

Під дією різних, так званих *фенотипових* (від гр. файно- – відбиток, образ) чинників, у рослин виникають різного типу морфози (від гр. морфе – форма). Так, під дією сили земного тяжіння у рослин спостерігаються бари або геоморфози. Сила тяжіння впливає і на характер росту ряду рослин. Так, у араукарії бічні гілки орієнтуються перпендикулярно до сили земного тяжіння. У деяких рослин – тополі, дуба, ялівцю тощо – відомі так звані пірамідальні форми, а в інших бука, ясена, жовтої акації та ін. плакучі.

Різні хімічні реагенти викликають *хемоморфози*. Найкраще вони спостерігаються в разі нестачі або надлишку поживних речовин. В першому випадку виростають так звані голодні форми (нім. *Hungerformen*) і карлики (нанізм, від гр. нанос – карлик), які мають різні морфологічні і анатомічні особливості. Прикладом є японські карликові дерева. Такі форми часто передчасно зацвітають. Надмірне живлення, навпаки, може приводити до переростання (гігантизму), коли завдяки сильному розвитку вегетативних органів пригнічується розвиток генеративних органів. У наступному поколінні, як правило, гігантизм і карликовість зникають і виростають нормальні рослини.

Під дією води утворюються *гігоморфози* (від гр. гігрос – вологий). Вже за зовнішнім виглядом рослини можна розділити на водяні і суходольні. Водяні рослини мають слабо розвинені механічні елементи. На повітрі, питома вага якого менша від води, вони безвільно звисають. Чим в сухішому повітрі ростуть рослини, тим більше гальмується їх ріст, вкорочуються меживузля, але вони будуть товщими і їх буде більше; міцність осьових органів збільшується; розміри листків зменшуються, але вони потовщуються і на них густішає сітка жилок; на листках і стеблі з'являються волоски; збільшується коріння; раніше опадають листки, квітки і плоди; клітини епідермісу, кори і серцевини зменшуються, а кількість продихів збільшується; збільшується кількість секреторних органів і клітин з кристалами; прискорюється утворення корка і склеренхіми, які зумовлюють утворення судин. У вологому повітрі всі ознаки змінюються в протилежному напрямі. Вологість повітря впливає також і на якісні показники. Наприклад, новозеландська *Veronica tetrastricha* в природних умовах на освітленому сухому місці має малі, щільно притиснуті до стебла лускуваті листки, які тільки на зовнішньому боці (на морфологічно нижній частині листка) мають продихи. В тінистих, вологих місцях з'являються добре розвинені, короткочерешкові, із зубчастими краями листки. Продихи у них

розташовані з обох боків. У багатьох рослин посушливих місцевостей бічні гілки перетворюються в колючки (*Discaria toumatou*, *Ononis spinosa*, *Ulex europaeus*), а при культурі на вологому місці утворюють облистяні бічні гілки.

Із зміною температури утворюються так звані термоморфози (від гр. термос – теплий). Різні рослини можуть утворювати окремі органи тільки при певних температурах. Так, *Ascophyta gossypii* при 10° утворює лише пікнідії, при 23° – лише хламідоспори. *Eurotium repens* при 20-21° утворює лише конідії, при 25° – лише перитеції, а при 21-25° обидва органи. *Xylaria arbuscula* ніколи не утворює плодових тіл при 20°, але добре утворює при 30°.

При дотиканні рослин до різних тіл навколишньої природи можуть виникати тигмо- (від гр. тигма – дотик) або гантоморфози (від гр. ганто – торкаюсь). Так, наземна форма *Riccia fluitans* при стиканні із землею утворює ризоїди, водна ж форма їх немає. Присоски, якими вусики вищих рослин прикріплюються до підпорок, часто утворюються в результаті набухання верхівки, але вони розвиваються лише тоді, коли дотикаються до опори. В деяких випадках, наприклад, у *Ampelopsis quinquefolia*, контактне подразнення приводить і до попереднього набрякання. Вусики, які обвивають опору, значно ростуть у товщину, що призводить до утворення специфічних здерев'янілих утворень. Цікаво, що тигмоморфоз спостерігається тільки при дотиканні до твердого тіла. У *Cuscuta europaea* гаусторії виникають лише з боку субстрату. Контактна подразливість у *Cuscuta* виникає лише при односторонній дії сили тяжіння, у рослин, вирощених на кліностаці, вона не виникає.

Під дією механічного тиску і тяжіння утворюються різні механоморфози (від гр. механе – знаряддя), серед яких розрізняють пасивні і активні форми. Пасивні механоморфози спостерігаються, наприклад, у коренів, що проходять через вузькі щілини і набувають стрічкуватої форми. Зернівки кукурудзи, які щільно стоять у початку, або ягоди винограду, що щільно розташовані в гроні, в місцях дотикання сплющуються. Спори і пилкові зерна, які виникають з однієї материнської клітини, набувають форми тетраедра. Цим самим механічним впливом пояснюється й існування односторонніх крон у рослин, що ростуть у горах, де вітри дмуть в одному напрямку. Зовнішнім тиском пояснюються різні покручені молоді листки, бруньки, зародки і сім'ядолі та складки на них (молоді зародки, видалені з недозрілого насіння *Cruciferae* в поживній суміші поза зародковим мішком ростуть прямо, їх сім'ядолі не скручуються). Активні механоморфози утворюються тоді, коли тиск і напруга тяжіння викликають поділ клітин. Це й приводить до того, наприклад, що *Chara fragilis* в стоячій воді рідко перевищує 40 см завдовжки, а в канавах з проточною водою 160 см, а *Fontinalis antipyretica* в швидких джерелах має товсті стебельця з сильно потовщеними оболонками клітин і з показником міцності 535 г/мм², а в озері вдвоє тонші стебельця з тонкими оболонками клітин і показником міцності 351 г/мм². Якщо штучно згинати і розгинати молоді рослини соняшника і клена, то зрізи стебла матимуть овальну форму, причому більший діаметр розташований у площині згину в результаті збільшеного росту в цьому місці.

Під дією інших організмів спостерігаються різні біо-, фіто- та зооморфози. Дуже виразні біоморфози викликають оси *Cynipidae* та мушки *Cecidomyidac*, які утворюють так звані гали (від лат. *gallae* чорнильний горішок). Гали зумовлюють гіпертрофію (від гр. гіпер більше; трофе живлення), гіперплазію (від гр. гіпер більше; плазис утворення), коли – збільшуються розміри тканини, атрофію (від гр. атрофео чахну), або гіпоплазію (від гр. гіпо – під; плазис – утворення), коли розміри тканин зменшуються. До біоморфозів належать і створені бульбочковими бактеріями *Bacterium radicum* (*Rhizobium leguminosarum*) на коренях бобових рослин бульбочки або іншими азотфіксуючими мікроорганізмами (*Rhizobium rubiacearum*) подібні бульбочки на листках тропічних рослин з родини *Rubiaceae* (зокрема *Pavetta*), нарости на коренях щеп, які викликаються *Agrobacterium tumefaciens* та ін.

Створений людиною формовий сад – це теж приклад біоморфозу.

Тема 4.4. Розвиток рослин

Рослини поділяють на одноклітинні і бататоклітинні, нижчі і вищі, одно- і багаторічні, озимі й ярі, моно- і полікарпічні. Кожна з цих груп рослин характеризується певними особливостями. Проте всім їм властиві і деякі загальні закономірності, наприклад, організм, як і все живе, народжується, розвивається та вмирає. Життєвий цикл його не може бути представлений без будь якого з цих елементів. Причому такий характер розвитку властивий не лише окремим індивідуумам, а й окремим клітинам і тканинам, а також різним екземплярам, добутим в результаті вегетативного розмноження, окремим сортам плодових культур, добутим за допомогою вегетативного розмноження тощо (рис. 4.13.).



Рис. 4.13. Розвиток рослин

<https://ru.freepik.com/>

Ф. Енгельс розрізняв такі життєві фази: ембріональне життя, юність, статеву зрілість, процес розмноження, старість, смерть.

Подібного погляду дотримувався й І. В. Мічурін. Він зазначав, що все живе на земній кулі підлягає загальному закону існування. Всі організми народжуються, живуть і вмирають.

Цьому ж закону підкоряються всі форми рослинного царства (кожний рід їх, вид і різновидності). І не тільки їх різновидності, а й окремі види родів і цілі родини рослин розмножуються і розвиваються тільки доти, поки ці умови внаслідок хоч і повільної, але постійної, зміни всього не вийдуть за межі необхідного для цього виду рослин. Після цього розвиток кожної форми починає спадати, рослина хворіє і, нарешті, остаточно гине; а в іншому випадку перероджується в інший вид. Для всіх видів наших сільськогосподарських рослин в одному випадку немає і не може бути ніяких винятків, що ми і бачимо на практиці; сорти рослин старіють, вироджуються, стають малопродуктивними, а деякі, як наприклад, деякі сорти гречки, зовсім зникають з наших полів; деякі лікарські рослини зовсім втратили свої лікувальні властивості і вилучені з нашої фармакології, та й деякі з тих, що ще вживаються, не дають ефективних препаратів. Ніяке поліпшення культур удобренням і кращою обробкою ґрунту в цьому випадку не допоможе.

О. В. Казарян виділяє три періоди росту для скелетних осей кущів (період вегетативного росту частин; період плодоношення, відмирання і росту; період усихання і плодоношення) і для цілого куща (період кушіння; період усихання і утворення нових осей; період усихання куща).

М. Х. Чайлахян розрізняє такі стадії онтогенезу: ембріональний – насінний, або бруньковий, ювенільний, або молодості, зрілості – статевої, або вегетативної; розмноження - статевого, або вегетативного; старості.

Різна тривалість життя властива окремим клітинам. Так, клітини серцевини у різних рослин залишаються живими від 1 до 42 років. У кактусів клітини серцевини і кори живуть до 100 і більше років. До 100 років живуть паренхімні клітини деревини і, зокрема серцевинних променів. Клітині фелодерми залишаються живими не менш як 10 років.

При проростанні насіння із зародка утворюється проросток, з якого починається самостійний життєвий шлях рослинного організму. Цей шлях пролягає через ряд вікових етапів, кожний з яких характеризується структурно-морфологічними і біологічними особливостями.

Характерною особливістю першого періоду – періоду сходів, або проростків, є наявність поряд з самостійним живленням також використання поживних речовин материнської рослини, у зв'язку з чим їм властива наявність зародкових листків – сім'ядоль, які рідко зберігаються до цвітіння. У деяких рослин (наприклад, роду *Peperomia*) при проростанні насіння одна з сім'ядоль виходить з насіння і зеленіє, виконуючи асиміляційну функцію, інша ж залишається в насінні, відіграючи роль гаусторіального органу. Таке явище називають анізокотилією (від гр. анізос – нерівний; котиледонес – сім'ядоля).

Ювенільні рослини, на відміну від проростків, живляться цілком самостійно за допомогою первинних листків і кореневої системи. Ювенільний період у різних рослин триває від кількох днів або тижнів у однорічних до кількох, іноді багатьох років у багаторічних рослин. У ювенільних рослин

також спостерігається значна, порівняно з дорослими рослинами, одноманітність і вегетативних органів у межах роду, триби, а іноді і родини. Проте різні вчені вкладають у поняття ювенільний період різний зміст, але всі вони вважають, що в молодому віці рослини мають звичайно листки особливого типу, так звані примарні (від лат. *primus* – перший), які значною мірою відрізняються від наступних – секундарних (від лат. *secundus* – другий).

Відмінності між ювенільними та дорослими рослинами особливо помітні в характері листків, які у проростків часто зовсім відрізняються від листків дорослих рослин. Причому найчастіше первинні листки ювенільних рослин відрізняються слабшою диференціацією і недосконалим розчленуванням пластинки.

Ювенільним рослинам властиві і окремі біологічні особливості. Так, вчені зазначають, що ювенільні рослини більш чутливі до умов навколишнього середовища на початкових етапах розвитку. Відомі ще деякі особливості рослини, які виявляються на початкових етапах розвитку. Наприклад, у молодих екземплярах модрина європейської на кінцях головних і бічних пагонів попереднього року зберігається зелена, хвоя, тоді як у дорослих дерев хвоя опадає щорічно восени.

При переході від ювенільної до дефінітивної (дорослої) форми часто спостерігається більш чи менш виражений перехідний, або прематурний, період. Так, К. Гебель описав у виткої ароїдної рослини *Anadendron medium* 8 послідовних типів листків, які розташовані на різному рівні і у яких поступово збільшується складність. К. Гебель розрізняв два типи розвитку рослин від ювенільного до дорослого стану: *гомобластний*, коли ювенільні рослини незначно відрізняються від дефінітивних, і *гетеробластний*, коли спостерігається різка зміна форми органів рослин на шляху від ювенільного до дефінітивного стану.

Зміни в характері розвитку рослин дуже добре спостерігати за морфолого-анатомічного та фізіолого-біохімічною різноякісністю різних частин і органів рослин (стебло, листки, корінь). Розвиток рослинного організму обов'язково закінчується старінням і смертю.

Може виникнути питання про початок старіння. Чи починається воно з моменту виникнення організму, чи значно пізніше, після плодоношення, коли виявляються ознаки ослаблення організму. Залежно від вирішення цього питання різним буде й уявлення про цей процес. Деякі вчені вважають, що старіння рослин відбувається весь час, проте вони підкреслювали, що інтенсивніше воно в пізніших метамерних формуваннях, а інші вважають, що старіння відбувається не завжди. Так, К. Сакс вважав, що старіння не спостерігається, поки відбувається ріст клітин, а Леопольд – закінчення росту є початком старіння.

Швидкість старіння і відмирання різних рослин неоднакова. З квіткових рослин найшвидше відмирають так звані ефемерні рослини, що розмножуються насінням (наприклад, *Draba verna*). Досить швидко відмирають однорічні та дворічні монокарпічні рослини, причому старіння настає одночасно для більшості рослин на полі. Моліш, вивчаючи відмирання рослин після

плодоношення, дійшов висновку, що репродуктивна активність (формування плодів) позбавляє решту органів цих рослин значної кількості поживних речовин і цим спричиняє старіння.

Не тільки швидкість, а й характер старіння та відмирання у різних рослин неоднаковий. Так, у однорічних злаків листка на рослині відмирають, починаючи з моменту зав'язування насіння в акропетальному напрямі (в такому ж порядку і жовтіє соломина в них), у багаторічних злаків є дві хвилі: під час початкових фаз зерно формується так само, як і у однорічних злаків, – знизу вгору охоплює найнижчі листки, а потім під час наливання і дозрівання насіння – в оберненому базипетальному напрямі (пожовтіння соломини відбувається лише в базипетальному напрямі). Це пояснюється тим, що однорічники розмножуються тільки насінням і всі пластичні речовини з рослини надходять у насіння, а багаторічники розмножуються як насінням, так і бруньками, які розвиваються при основі старого стебла. Біологічне значення цих відмінностей, полягає в найкращому забезпеченні відтворення нового організму. В результаті акропетального відмирання органів у однорічників, які розмножуються насінням, усі цінні поживні речовини (азот, фосфор, рухливі вуглеводи та ін.) рухаються з відмираючих органів до насіння. Внаслідок базипетального ж відмирання листків та соломини і тривалої затримки в живому стані частини листків, а також нижніх меживузлів стебла і коренів забезпечується формування молодих пагонів відростання з бруньок, що почали ріст. Тобто відмінність між одно- і багаторічниками визначається тим, що в перших полярність переміщення основного току пластичних речовин протягом усього життя рослини залишається без змін і направлена знизу догори, а в других вона в період дозрівання насіння така ж, а після дозрівання насіння змінюється на обернену. Звідси можна зробити висновок, що при еволюційному перетворенні багаторічного життя в однорічне повинна втрачатись здатність рослини змінювати свою полярність і спрямовувати напрям руху пластичних речовин до бруньок вузла відростання. Очевидно, це і є однією з причин того, що у однорічників такі бруньки залишаються в стані спокою.

Вивчаючи питання старіння деякі вчені посилаються на широко відоме старіння білків, значно більш складне старіння окремих органоїдів клітини, ще складніше старіння окремої тинини і, нарешті, старіння багатоклітинного організму. Тому закономірності старіння окремих білків не можна переносити на клітину, як не можна застосовувати закономірностей старіння клітин до аналізу фактів старіння складного багатоклітинного організму. Проте в усіх випадках старіння супроводиться біологічною інактивацією структур, але закономірність ще інактивації ускладнюється і розвивається разом з розвитком і ускладненням морфологічної, фізіологічної і біологічної основ організму. Білкові молекули і, можливо, молекули нуклеїнових кислот «старіють», інактивуються в результаті неповного самооновлення, причиною якого є нееквівалентність розпаду і ресинтезу зв'язків поряд з нерівнозначністю. Клітина старіє також в результаті неповного самооновлення, проте суть цього самооновлення тут поширюється, бо воно включає в цій формі живої речовини не тільки обмін внутрішньомолекулярних компонентів з внутрішньоклітинним

середовищем, а й обмін клітин з навколишнім середовищем за допомогою живлення і виділення, ріст, поділ та інші явища. В багатоклітинному організмі з віком теж накопичуються зміни внаслідок неповного самооновлення, але тут закономірності цього процесу удосконалюються ще більше.

Тут тривалість життя залежить від закономірностей розвитку і метаболізму всього організму. Старіння є біологічним явищем, властивим усім формам живої матерії, яке забезпечує смертність окремих особин. Старіння є найзагальнішою причиною, яка забезпечує смертність особин і його загальнобіологічний, еволюційно доцільний характер, свідчить і про загальнобіологічні механізми цього явища, яке характерне для всіх індивідуальних форм живої матерії.

Певні дослідники дійшли висновку, що поширене щорічне зрідження на 25-50%, а іноді й масовий випад конюшини, залежить від біологічного старіння рослини, яке є результатом її розвитку. Процеси розвитку, що спричиняють прискорення або гальмування біологічного старіння рослини, супроводжуються як внутрішніми, так і зовнішніми змінами. Елементи структури конюшини, які характеризують його зрілість (видовжене стебло, головки і особливо рано квітучі фракції в розрахунку на кущ), кількісно в кілька разів більші у конюшини з прискореним розвитком порівняно з конюшинами одного з ними віку, але які ростуть в умовах, що гальмують їх розвиток. Біохімічні процеси у рослин, біологічно старіших порівняно з рослинами одного з ними віку, але біологічно молодшими, відбуваються неоднаково: у біологічно молодій рослині вони відбуваються інтенсивніше, ніж у конюшини однакового з ними віку, але біологічно старіших. Тому у біологічно молодих рослин конюшини накопичується більше хімічних речовин, властивих молодим за віком рослинам (сума цукрів, дицукри, сирий протеїн, білок, білковий і загальний азот), а у біологічно старих накопичується більше речовин, властивих старим за віком рослинам (сира зола, сира клітковина, жири). У ранньостиглих конюшин внаслідок спадкових особливостей біологічне старіння настає раніше, ніж у конюшин пізньостиглих. Високий агрофон, оптимальна вологість, безпокровне висівання і використання конюшини на насіння прискорює розвиток і старіння її. Навпаки, низький агрофон, недостатнє забезпечення вологою, підпокровне висівання і використання на сіно затримують розвиток, отже, і біологічне старіння. Вчені також підкреслюють, що конюшини, які збираються на насіння, значно швидше випадають, ніж ті, що використовуються на сіно. Запізнення із збиранням конюшини на сіно після цвітіння, а часто і при побурінні головок, спричинює більше зрідження порівняно з конюшинами, зібраними в період цвітіння і тим більше при бутонізації. Збирання конюшин у перший рік використання (перший або другий рік життя) на насіння прискорює випад конюшин. Таке використання економічно нераціональне. Доцільно використовувати в перші роки культури на сіно, а в останньому році - на насіння.

Давно вже почали вивчати питання, чи спостерігається старіння при вегетативному розмноженні рослин. Один з вчених пояснював старінням поступове вимирання деяких сортів яблунь і груш. Він довів, що в кожній

прищепі яблуні частково зберігається і після зростання життєвий стаж материнської рослини.

Отже, хоч і можна прищепленням і за допомогою інших сприятливих умов продовжити існування якогось сорту понад строк, звичайний для тих самих рослин, але вирощених з насіння, проте енергійний ріст їх продовжується недовго і скоро вони стають нестійкими проти несприятливих погодних умов і ґрунту.

Багато вчених вважали, що рослинний організм гине тільки від хвороб або від інших причин, але не від старіння.

Є багато рослин, які завжди або майже завжди розмножуються не насінням, а бруньками (*Vinca minor*, *Arundo phragmites*, *Poa festuca* та ін.), багато культурних рослин (банан, фінікова пальма, *Dioscorea batata*) також постійно розмножуються вегетативно, проте у них не спостерігається ознак старіння. Хвороби і епідемії культурних рослин – картоплі, винограду і плодових дерев – спричиняють здебільшого шкідники. Деякі старі сорти плодових дерев не виявляють жодного ослаблення, тоді як молоді сорти дуже часто хворіють. Спостерігається також, що сіянці і дикорослі рослини хворіють такою ж мірою, як і рослини, вирощені з живців.

М. Г. Холодний (припустив, що при яровизації насіння ауксини надходять з ендосперму в зародок, але оскільки зародок в цей час не росте, то концентрація ауксину в ньому збільшується, що сприяє скорішому проходженню перших фаз розвитку. До питання про роль ауксинів у яровизації і рослин близьке відношення мають дослідження з гормонізації насіння (намочування в розчинах ауксинів). В його дослідженнях внаслідок намочування насіння вівса в подрібненому ендоспермі кукурудзи, багатому на речовини, зацвітання прискорилося на 12 днів, а в результаті намочування в розчині ІОК (1мг/10мл) збільшувався урожай зерна і соломи. Іншими вченими з цього питання було отримано неоднакові результати.

Деякі вчені, які вивчали роль ауксинів у розвитку рослин, дійшли висновку що:

1) в процесі яровизації ауксини використовуються, в результаті чого їх вміст у рослині зменшується;

2) проходження яровизації можна викликати без впливу зниженої температури, знижуючи яким-небудь чином рівень ауксинів у рослині, наприклад, впливом антиауксинів;

3) процес яровизації можна зробити оборотним, якщо відразу ж після нього обробити рослину ауксином, тоді як в результаті обробки ауксином перед яровизацією стимулюється подальший розвиток;

4) не слід вважати, що при яровизації утворюється якийсь особливий специфічний гормон яровизації, оскільки під час яровизації змінюється весь обмін речовин, в тому числі і вміст ауксинів.

Вплив світла на рослину є основним чинником на світловій стадії розвитку рослин. Уже в 1739 р К. Ліней відзначав швидкий ріст і розвиток рослин на Півночі і пов'язував його з довгим північним днем. Турнуа досліджував хміль японський і помітив, що зацвітає він то раніше, то пізніше,

залежно від довжини світлого періоду дня. Пізніше доведено, що відмінність між рослинами довгого і короткого дня лежить у відношенні їх до довжини темного періоду доби. Рослинам короткого дня для зацвітання потрібний темновий період більший від порогової величини, а у рослин довгого дня при такому темновому періоді, навпаки, цвітіння не спостерігається. Саме в кінці літа рослини короткого дня одержують достатньо довгу ніч, а рослини довгого дня одержують необхідну їм коротку ніч на початку літа.

Серед рослин довгого і короткого дня є види, у яких цвітіння чітко контролюється фотоперіодом, і багато інших, у яких спостерігається лише кількісне прискорення або гальмування цвітіння під впливом різних фотоперіодів. Деякі рослини потребують короткого дня на фазі проростків, а на пізніших фазах – тільки швидше зацвітають під впливом короткого дня і під кінець свого розвитку стають нейтральними по відношенню до фотоперіодичної реакції.

Досить цікавим є також питання фотоперіодичної післядії, або індукції, яке полягає в тому, що рослини короткого дня нема потреби тримати на короткому дні весь час аж до початку цвітіння, а досить дати тільки деяку кількість коротких днів, щоб зацвітання потім наступило і на довгому і, навіть, на безперервному дні. Так, і рослини довгого дня досить протримати на довгому дні протягом декількох днів, і потім вони зацвітуть, навіть якщо будуть перенесені на короткий день.

На фотоперіодичну реакцію по різному впливає також різний спектральний склад світла. Найінтенсивніше впливає червоне світло і при малій інтенсивності сприймається рослиною як відсутність світла.

Вивчається питання взаємозв'язку між стадійними, органотворчими та віковими змінами в онтогенезі, оскільки вони мають як теоретичне, так і важливе практичне значення. Кількість листків, які утворюються на рослині, залежить від довжини другого етапу органогенезу, що зумовлюється умовами географічних районів, у яких сформувався даний екологічний тип, а також – чим більше встигає утворитись листків на II етапі – тим вище по стеблу закладається перше суцвіття.

Положення теорії стадійного розвитку рослин про локалізацію стадійних змін в точках росту підтверджене багатьма дослідженнями, в яких доведено, що при яровизації рослин саме на верхівкову меристему головного стебла впливає знижена температура і саме в меристематичних клітинах відбуваються процеси яровизації. Поряд з тим деякі вчені вважають, що стадійні зміни, які відбуваються при яровизації передаються не тільки шляхом поділу клітин від материнської клітини до дочірньої, а й, наприклад, від ярої пшениці (донор) до озимої пшениці (рецептор) разом з енергетичними речовинами, що направляються від донора до рецептора. На світловій стадії для сприйняття довжини дня необхідна діяльність зеленого листка і пазушної бруньки. На цій стадії сама меристема сприймати фотоперіодичний вплив не може. Звичайно, при цьому приписують активну роль листку і пасивну – бруньці.

М. Г. Холодний вважав, що в процесі переходу рослин до цвітіння бере участь неспецифічний комплекс високоактивних речовин. Він вважав, що

можливо в цьому процесі беруть участь фізіологічно полівалентна речовина, яка діє не тільки на розтягування клітин, як вважалося раніше, але й стимулює коренеутворення, утворення калусу, партенокарпічних плодів тощо. Він також вважав, що крім ауксину в процесі переходу до цвітіння значна роль належить вітамінам групи В, та іншим речовинам-регуляторам. Гормони та інші речовини, які тепер знаходять в рослинному організмі, є продуктом тривалої еволюції. Найголовніше в науці про онтогенез – фізіологічний підхід, пояснення внутрішніх чинників цвітіння.

Деякі вчені зазначають, що із збільшення кількості ауксинів у рослини пригнічується цвітіння у короткоденних рослин, а із зменшенням ауксинів стимулюється цвітіння.

Доведено, що гібереліни стимулюють цвітіння у рослин, які на стадії яровизації потребують низьких температур (капуста, буряк, ріпа, морква, салат, петрушка, блекота) та у рослин довгого дня (кріп, салат-латук, левкой, редис, рудбекія та деякі інші).

Доведено, що внаслідок дії гіберелінів утворюються і ростуть стебла і безпосередньо на утворення квіткових органів гібереліни не впливають.

Розвиток рослин є невід'ємним процесом всього живого, а отже, і всіх рослинних організмів – одноклітинних і багатоклітинних, однорічних і багаторічних, трав'яних і дерев'яних.

Аналогічні і гомологічні органи. Порівнюючи рослини в онтогенезі. Ми бачимо, що в багатьох з них розвиваються органи, які виконують одну і ту саму функцію, але мають різне походження. Наприклад, бульба картоплі, коренеплід буряка виконують функцію запасання поживних речовин, а походження в них різне (у першому випадку – стеблове, у другому – кореневе). Такі органи називають аналогічними.

Навпаки, деякі органи мають одне і те саме походження, а функція у них різна. Наприклад, стебло льону, кореневище півників, філодії рускусу – усі стеблового походження, але функції у них різні: проведення води та різних сполук у першого, запасання поживних речовин - у другого, і фотосинтез – у третіх.

Такі органи називають гомологічними.

Поняття про життєві форми. У процесі еволюції рослин протягом мільйонів років під впливом зовнішніх умов створювались форми різних рослин. Життєва форма – це своєрідний спільний зовнішній вигляд певної групи рослин, включаючи надземні і підземні органи – підземні пагони і кореневі системи, який склався в їх онтогенезі внаслідок росту і розвитку в певних умовах середовища.

Є ряд класифікацій рослин за життєвими формами. Найпоширенішими є дві: класифікація фізіономічна і класифікація за Раункієром.

Фізіономічна система життєвих форм включає такі підрозділи:

1. Деревя
2. Кущі
3. Кущики
4. Напівкущики

5. Рослини подушки
6. Сукуленти
7. Ліани
8. Трав'янисті рослин
9. Мохи та нижні рослини.

Фізіономічна система побудована на основі зовнішнього вигляду рослин. Раункієр класифікує рослини за ознакою положення бруньок відновлення і за способом їх захисту у несприятливий період. Основні підрозділи цієї системи такі:

1. Фанерофіти – рослини, бруньки відновлення яких у несприятливий період знаходяться високо над поверхнею землі; стебла їх не відмирають, а листки можуть скидатися; до них належать дерева і кущі;
2. Хамефіти – рослини, бруньки відновлення яких розміщені над поверхнею землі невисоко; взимку вони можуть бути під сніговим покривом ; надземні вегетативні органи іноді частково відмирають; це кущики і напівкущики;
3. Гемікриптофіти – рослини, бруньки відновлення яких розміщені на рівні поверхні землі; несприятливий період вся надземна частина відмирає; сюди належить більшість багаторічних трав'янистих рослин;
4. Крптофіти – рослини, бруньки відновлення яких розміщені нижче від рівня поверхні землі; в несприятливий період відмирають надземна і підземна частина до бруньок відновлення; до них належать цибулинні, бульбо видні та кореневищні рослини;
5. Терофіти – рослини однорічні, в яких у несприятливий для вегетації період відмирають усі частини рослини, за винятком насіння.

Кожен з п'яти компонентів даної системи на дрібніші підрозділи.

Лабораторна робота №19 **Визначення зон росту в органах рослин**

Для вивчення ростових процесів по довжині органу, що росте, широко застосовують метод нанесення міток на поверхню органу через однакові відстані. У міру зростання органу ці відстані збільшуються і можуть бути використані для характеристики інтенсивності зростання різних ділянок зони органу, що росте.

Мітки наносять тушшю, приготованої розтиранням сухої туші в 5%-вому розчині декстрину або альбуміну, або маркувальною рідиною, отриманої з сажі активного вугілля і парафінового масла (сажу активоване вугілля розтирають з парафіновим маслом до утворення густої рідини).

Для нанесення міток можна використовувати щетинку, прив'язану до маленької палички, тонко заточену паличку або нитку, змочену тушшю або маркувальною рідиною.

Мета роботи: Ознайомитись з розміщенням зони росту у молодих корінцях з допомогою нанесення позначок тушшю.

Предмети і матеріали. Проростки гороху з довжиною коріння 1,5-2 см; туш або рідина для маркірування; препарувальні голки або тонко заточені дерев'яні палички; міліметрова бумага; вологі камери; дерев'яна тирса.

Хід роботи

1. Виростити у вологій тирсі насіння гороху чи квасолі, гарбуза, кінських бобів, кукурудзи. На початок досліду у них мають утворитися прямі корінці близько 2 см завдовжки.

2. На невеликих (довжиною 1,5-2 см) абсолютно прямих, попередньо обережно обсушених фільтрувальним папером коріння (3-4 кореня) наносять мітки починаючи від кінчика кореня. Відстань між мітками роблять 1 мм. Мітки мають бути тонкими та добре помітними.

3. Далі проростки розміщують у сприятливі умови зростання: у вологі камери, темні кімнати за нормальної температури + 20-25 °С.

4. Через добу вимірюють відстань між мітками (при збільшенні ширини самих міток вимірюють з їхньої середини) і обчислюють середній добовий приріст різних ділянок кореня.

5. Результати виражають графічно, відкладаючи на осі абсцис номери відрізків, в осі ординат – прирости.

6. Роблять висновок характер зростання кореня.

7. Результати досліду записують за схемою у таблицю 4.1

Таблиця 4.1

Номер проростку	Зона росту (мм)																Прим.	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
1																		
2																		
3																		
4																		

Висновки:

Контрольні запитання?

1. Дайте визначення понять ріст і розвиток. Яке взаємовідношення цих двох процесів?
2. Поясніть, як відбувається проростання, первинний і вторинний ріст рослин.
3. Які особливості первинного росту пагона і кореня.

Лабораторна робота №20 Визначення зони росту стебла

Метод заснований на обліку приростів різноманітних ділянок стебла за добу.

Мета роботи: Ознайомитись з розміщенням зони росту стебла у молодих проростків.

Предмети і матеріали. Проростки соняшнику заввишки 2-3 см, вирощені в темряві; туш; препарувальні голки або тонко заточені дерев'яні палички; лінійки.

Хід роботи

1. На чотирьох проростках соняшнику заввишки 2-3 см наносять тушшю, починаючи від верхівки проростка, по 10 міток на відстані 2 мм один від одного.

2. Поміщають проростки в темряву при + 20-25 °С, через добу вимірюють відстані між мітками і обчислюють приріст різних ділянок стебла.

3. Результати досліду записують у зошит і виражають графічно, відкладаючи на осі абсцис порядковий номер мітки, а на осі ординат – приріст.

4. Роблять висновок характер зростання стебла.

5. Результати досліду вираховують за схемою у таблиці 4.2:

Таблиця 4.2

Номер приросту	Зона приросту (мм)										Примітки
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1											
2											
3											
4											

Висновки

Контрольні запитання?

1. Дайте визначення регенерації рослин.
2. Що зумовлює перехід рослини до цвітіння?
3. У чому суть фізіологічної функції явища спокою?

Питання для обговорення та самоперевірки до Розділу 4:

1. Які є фази розвитку рослин? Як температура впливає на фази розвитку.
2. Як впливає вологість ґрунту і повітря на ріст рослин.
3. Який принцип вимірювання рослин.
4. Як впливають поживні речовини на ріст рослин.
5. Як гази впливають на ріст рослин.

РОЗДІЛ 5 ФІЗІОЛОГІЯ ВИДІЛЕННЯ РЕЧОВИН

Тема 5.1. Класифікація рослинних виділень. Поняття про секрецію та екскрецію та механізми виділення

Процеси виділення речовин виконують різноманітні функції у живому організмі. Наприклад, від пошкоджень та мікроорганізмів клітину захищають клітинні стінки, які утворюються з виділених полісахаридів та інших речовин, слизові полісахаридні чохла на поверхні кореневих волосків, воскові виділення на поверхні листків, леткі фітонциди. Виділення нектару сприяє запиленню рослин комахами та вилову здобичі комахоїдними рослинами тощо.

Виділення речовин може бути пасивним та активним. Пасивне виділення за градієнтом концентрації називається екскрецією, активне виведення речовин із витратою енергії – секрецією. У рослин розрізняють три типи секреції:

1. *Мерокринова* може бути двох видів: а) еккриновий (мономолекулярний) через мембрани, що здійснюється переносниками або іонними насосами; б) гранулокриновий – виділення речовин у везикулах (мембранних міхурців, секрет яких вивільняється назовні під час взаємодії везикул із плазмалею або переходить безпосередньо у вакуолю. Везикули утворюються в апараті Гольджі.

2. *Апокринова* – процес, коли разом із секретом виділяється частина цитоплазми, наприклад, разом із відділенням головок у сольових волосків галофітів.

3. *Голокринова* – явище, коли вся клітина перетворюється на секрет, наприклад, секреція слизу клітинами кореневого чохла.

Тема 5.2. Внутрішні і зовнішні видільні структури

Рослини можуть накопичувати та запасати речовини про запас. Крім того, будь-яка жива клітина має здатність до виділення речовин, проте, якщо у тварин процес виділення продуктів життєдіяльності супроводжується виділенням з організму, то у рослин непотрібні речовини можуть накопичуватися у вакуолях, мертвих клітинах або міжклітинних просторах. Цілісна система у рослинних організмів відсутня, оскільки існують лише спеціалізовані структури, які залежно від розташування поділяють на зовнішні та внутрішні (рис. 5.1.).

До зовнішніх секреторних структур відносяться залозисті волоски (трихоми), залозки, нектарники, осмофори (залозки, розташовані у квітконосах і продукують ефірні олії, від яких залежить власне аромат квітів) та гідатоци. Зовнішні структури виділення виділяють секретовані речовини в оточуюче середовище. Залозисті трихоми і емергенції часто зустрічаються у рослинних організмів. Трихоми є похідними епідерми, а в утворенні емергенцій приймають участь як епідерма, так і тканини, що знаходяться глибше. Усі вони мають вигляд волосків або різноманітних виростів.

Видільні тканини

Тканини зовнішньої секреції:

- залозисті волоски
- нектарники
- гідатоди
- травні залози
- сольові залози
- сольові волоски

Тканини внутрішньої секреції:

- ідіобласти
- вмістилища (схізогенні та лізигенні)
- млечники

Рис. 5.1. Класифікація видільних тканин

<https://ibc-naas.com/>

Залозисті волоски зазвичай мають добре помітну ніжку з однією або кількома клітинами та одно- або багатоклітинну головку, розвиваються із клітин епідерми та морфологічно вони дуже різноманітні. (рис. 5.2.).

Клітини голівки є секреторними клітинами, що виділяють секрет під кутикулу, якою вкритий волосок. При розриві кутикули речовина виділяється назовні, після чого цілісність кутикули відновлюється, і може накопичитися нова крапля секрету. Залозисті волоски на листках пеларгонії виділяють ефірні олії; сидячі головчасті волоски, що утворюють борошнистий наліт на листках маревих – воду та солі.

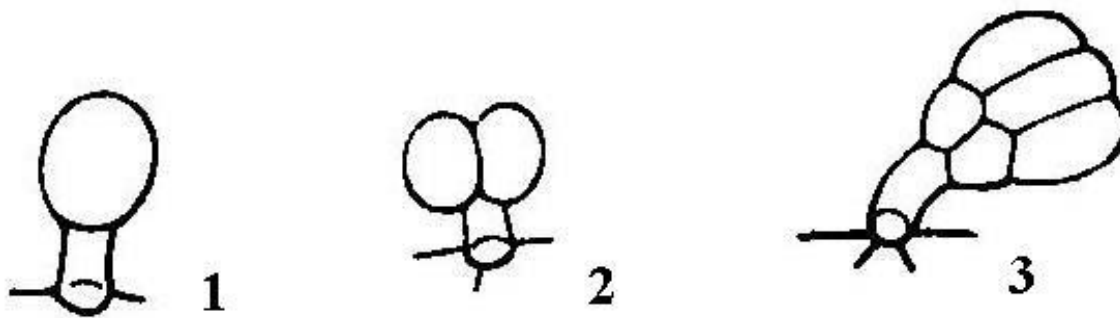


Рис. 5.2. Залозисті волоски: 1 – з одноклітинною головкою; 2 – з двоклітинною головкою; 3 – з багатоклітинною головкою

<https://ibc-naas.com/>

Залозки відрізняються від волосків відсутністю ніжки або дуже короткою ніжкою і завжди багатоклітинною головкою (рис. 5.3.).

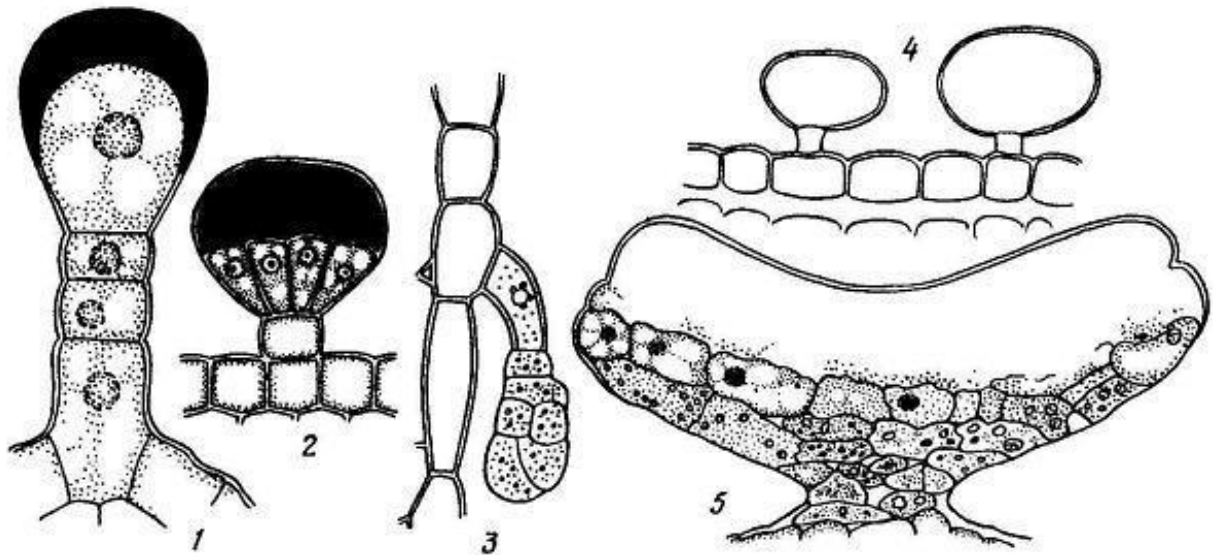


Рис. 5.3. Залозисті волоски і залозки: 1 – волосок пеларгонії з ефірною олією, виділеною під кутикулу; 2 – залозки розмарину; 3 – волосок картоплі; 4 – пухирчасті волоски лободи з водою та солями у вакуолях; 5 – залозка листків чорної смородини

<https://ibc-naas.com/>

Часто залозки мають характерну будову певних систематичних груп. Так, у представників сімейства губоцвітих секреторні клітини, що продукують ефірні олії, розташовуються у залозках радіально, а у складноцвітих секреторні клітини в ефіроолійних залозках розташовуються в 2 ряди та 3-4 яруси (рис. 5.4.). Ефірна олія герані має свіжий, насичений, теплий і квітково-рожевий аромат, що піднімає настрій. Впливаючи на нервову систему, усуває занепокоєння та депресію, піднімає настрій. Насамперед, це загальновідомий засіб для лікування отоларингологічних хвороб, допомагає зняти запальні процеси слизових оболонок рота та носа. Також, вона надає сприятливу дію на серцевий м'яз, нормалізуючи її роботу та покращуючи мікроциркуляцію в ній, усуває явища ішемії та тахікардії. Доведено також, що при регулярному довготривалому застосуванні олія герані вирівнює артеріальний тиск.

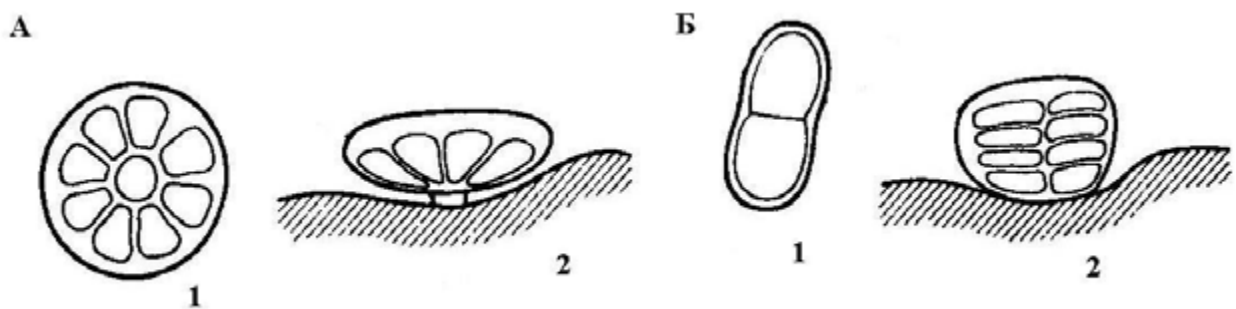


Рис. 5.4. Схема будови ефіроолійних залозок губоцвітих (А) та складноцвітих (Б): 1 – вид із поверхні; 2 – вид збоку

<https://ibc-naas.com/>

Прикладом залозистих емергенців є пекучі волоски собачої кропиви (*Leonurus L.*) (рис. 5.5.). Вони мають розширену багатоклітинну основу і велику кінцеву клітину з маленькою, закругленою головкою, що легко обламується. Стінки клітини просякнуті кремнеземом і гострі краї після обламування головки поранюють шкіру, впорскуючи отруйний секрет, майже як медичний шприц.

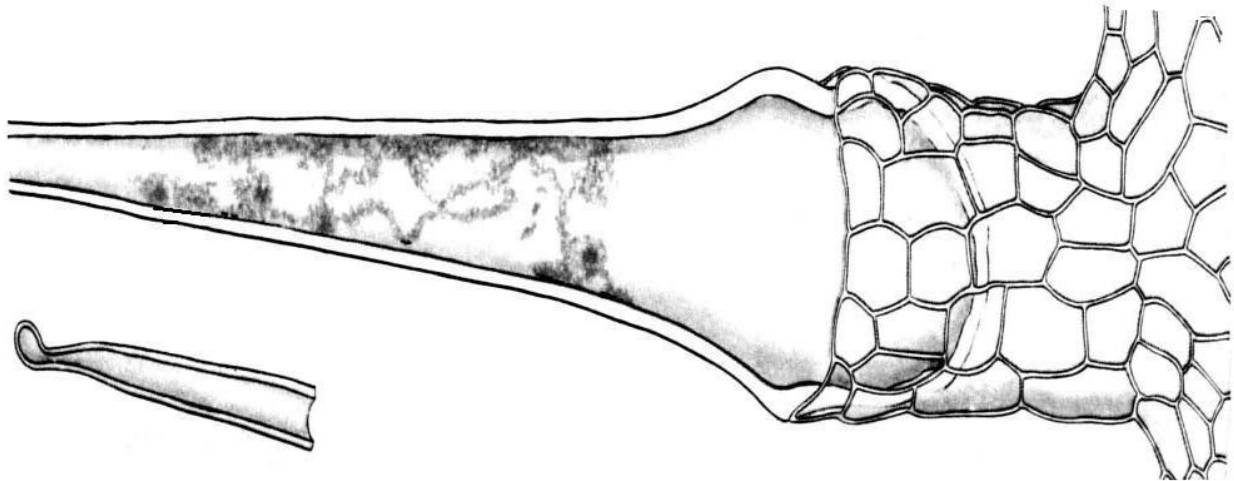


Рис. 5.5. Пекучий емергенець *Leonurus L.*

<https://ibc-naas.com/>

Нектарники виділяють нектар, що є водним розчином цукрів з домішками білків, спиртів та ароматичних речовин. Вони зазвичай утворюються на частинах квітів, але можуть зустрічатися і на інших надземних органах рослин. Нектар служить їжею для комах, деяких птахів та інших тварин, які є агентами перехресного запилення рослин (рис. 5.6.).



Рис. 5.6. Комахи-запилювачі на квітах рослин

<https://meta.ua/>

Осмофори виділяють леткі ефірні олії, що зумовлюють власне аромат квітів.

Влітку рано-вранці у багатьох рослин на поверхні листків помітні крапельки води, особливо яскраво, ці крапельки видно у рослин приворотню звичайного (*Alchemilla vulgaris*). Це не роса, яка спостерігається після дощів у другій половині літа, а активне виділення води рослиною. Це виділення крапельно-рідкої води отримало назву гутації (від лат *gutta* – крапля). Гутація

відбувається через особливі водяні продиhi – гідатоди. Гідатоди виділяють крапельно-рідку воду і розчинені в ній солі, що і формує процес гутації. Вона характерна для рослин, які живуть за високої вологості атмосфери, і для проростків з ще несформованою випаровувальною листовою поверхнею. Основні видільні структури при гутації – водяні залозки – служать для видалення з рослини зайвої води.

Водночас, гідатоди бувають влаштовані по-різному. Якщо вода виділяється клітинами внутрішніх тканин рослини, вона надходить у міжклітинники, звідки видалається назовні крізь продиhi. Зазвичай, як місце виділення води, так і вихідна продихова щілина є заздалегідь наміченими, утворюючи постійно готовий до дії механізм – гідатоди (рис. 5.7.).

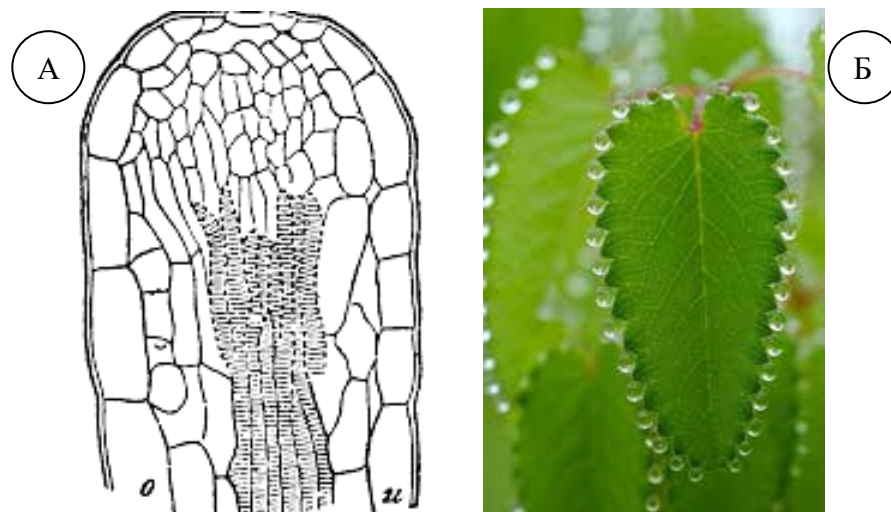


Рис. 5.7. Будова гідатоди (А) та гутація (Б)

<https://meta.ua/>

Таке утворення носить назву водяного продиhu, а відповідна ділянка, що видалає воду паренхімних клітин у випадку, якщо вона досить різко відокремлена від навколишніх тканин, носить назву епітеми. До епітеми зазвичай підходить впритул судинно-волокнистий пучок, а гідатодами часто служать спеціальні волоски. Логічно, що участь продиhив для виведення води в такому випадку не потрібна.

Травні залозки комахоїдних рослин (росянка, венерина мухоловка, непентес, пухирчатка тощо) виділяють рідину, що містить травні ферменти і кислі полісахариди. Вони служать для вловлювання та перетравлення дрібних комах, які для цих рослин є додатковим джерелом азоту. Так, росянка (*Drosera*) – дрібна рослина, що росте на торф'яних болотах. На верхньому боці листків цієї рослини є волоски – щупальця з червоною залізистою головою, оточені прозорим липким слизом. Дрібні мухи або мурахи, залучені блиском цих крапельок, сідають чи вповзають на листок і прилипають до нього. При цьому, листки виділяють речовини – алкалоїди, які паралізують комаху. Волоски згинаються і обволікають комаху слизом. Дослідженнями показано, що з тіла комахи, що потрапила у капкан росянки, дифундують речовини, у тому числі леткі різної природи. На сьогодні відмічено, що листки росички сприймають

навіть запахи. Під впливом механічного та хімічного подразнення краї листків загинаються та покривають жертву. Слиз залозистих волосків містить ферменти, що нагадують за складом травний сік тварин. Під впливом цієї суміші речовин комаха розкладається і наявні поживні речовини засвоюються рослиною. Поглинання поживних речовин здійснюється через залози, які безпосередньо стикаються з провідною системою листка.

Пухирчатка проживає на болотистих водоймах. Свою назву вона отримала завдяки наявності уловлюючих бульбашок, розташованих на листках або стеблах. У бульбашках є ротовий отвір, по краях якого розташовані волоски. Від верхнього краю отвору відходить тонкий клапан із залозками, що виділяють цукри та клейкі речовини. Під час дотику дрібних комах або рачків клапан відкривається, струмінь води, що виникає при цьому, захоплює тварину всередину порожнини, після чого клапан закривається і тварина перетравлюється ферментами (рис. 5.8.).

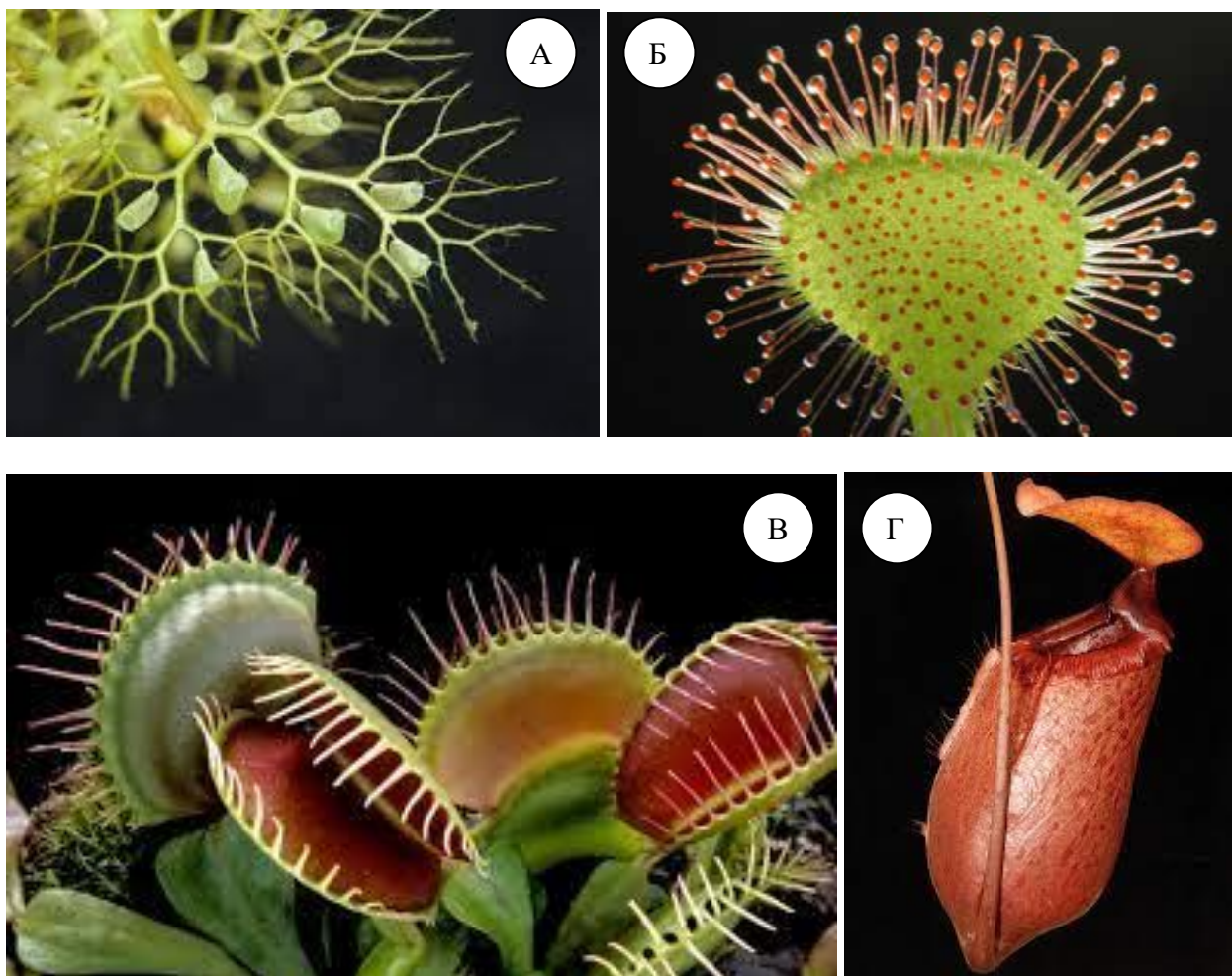


Рис. 5.8. Представники груп хижих рослин – пухирчатка (А); росичка (Б); венерина мухоловка (В) та непентес (Г)

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Сольові залози. Розвиваються у рослин, що живуть на засолених ґрунтах (вербенові, злаки) (рис. 5.9.).



Рис. 5.9. Загальний вигляд рослини-галофіта солероса європейського (*Salicornia europaea*)

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Розташовані переважно на листках і виводять надлишок мінеральних речовин у вигляді іонів на поверхню листків, де спочатку відкладаються на кутикулі, а потім змиваються дощем. Сольові залози утворюються на листках, стеблах багатьох рослин солончаків – галофітів (рис. 5.10.).

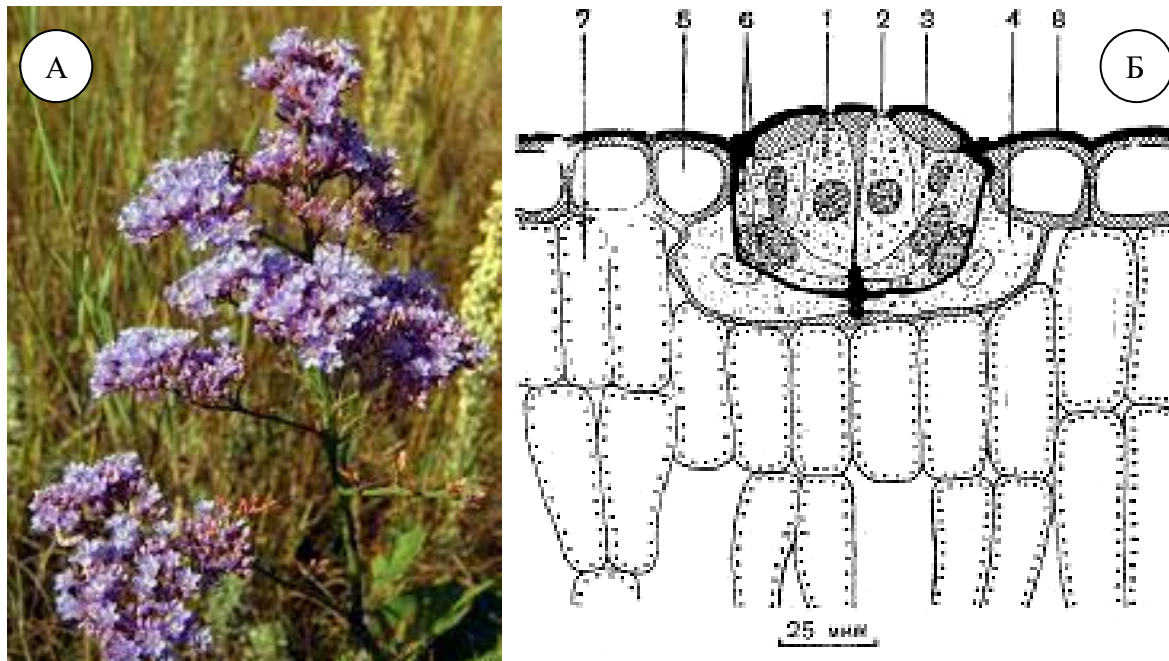


Рис. 5.10. Кермек Гмеліна (А) та сольова залоза листка на поперечному зрізі (Б): 1. секреторна клітина; 2. пора у кутикулі; 3. побічна клітина; 4. збірна клітина; 5. клітина епідерми; 6. бокальчаста клітина; 7. мезофіл; 8. кутикула

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Сольові волоски складаються із двох клітин: одна утворює голівку, інша – ніжку. Солі поступово накопичуються у вакуолі верхньої клітини, а коли їх

концентрація досягає певного рівня, головка відвалюється, і її місці утворюється нова накопичувальна клітина (рис. 5.11.).



Рис. 5.11. Загальний вигляд покрівельної рослини солончаків армерії приморської (*Armeria maritima* Vesuv) <https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Внутрішні структури виділення формують і накопичують речовини, що залишаються всередині рослини. Якщо речовина токсична, навколо накопичувальної структури утворюються відкладення суберину (жироподібної речовини, що викликає опробковування), який ізолює його від навколишніх тканин. Видільні (секреторні) клітини накопичують різні речовини: ефірні олії, слиз, дубильні речовини, кристали кальцію оксалату тощо. Це можуть бути як окремі клітини, розсіяні серед інших тканин як ідіобласти, наприклад клітини з кристалічним піском кальцію оксалату в мезофілі листків красавки чи беладони (*Atropa*), клітини з ефірною олією в кореневищі лепехи звичайної (*Acorus calamus*) (рис. 5.12.) або вони можуть утворювати шари.

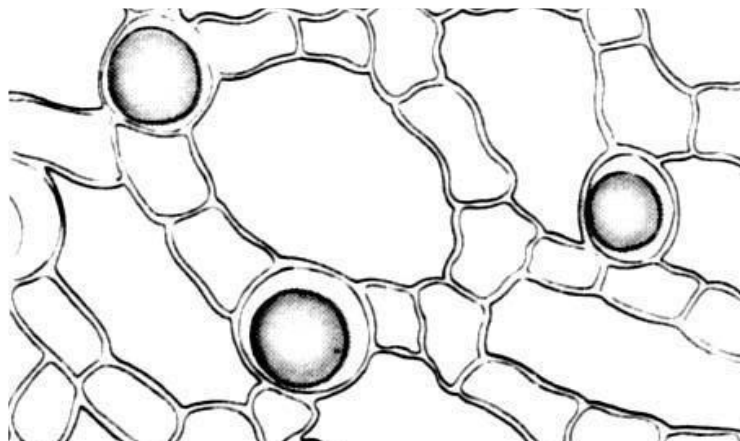


Рис. 5.12. Секреторні клітини з ефірною олією в аеренхімі кореневища *Acorus calamus*

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Спеціалізовані структури розташовані серед клітин інших тканин. Складаються з дрібних клітин із розвиненою ендоплазматичною мережею та комплексом Гольджі. Пов'язані численними плазмодесмами один з одним та із сусідніми клітинами. Накопичують дубильні речовини, ефірні олії. Ідіобласти з кристалами щавлевокислого кальцію (оксалату кальцію) це мертві клітини (рис. 5.13.).

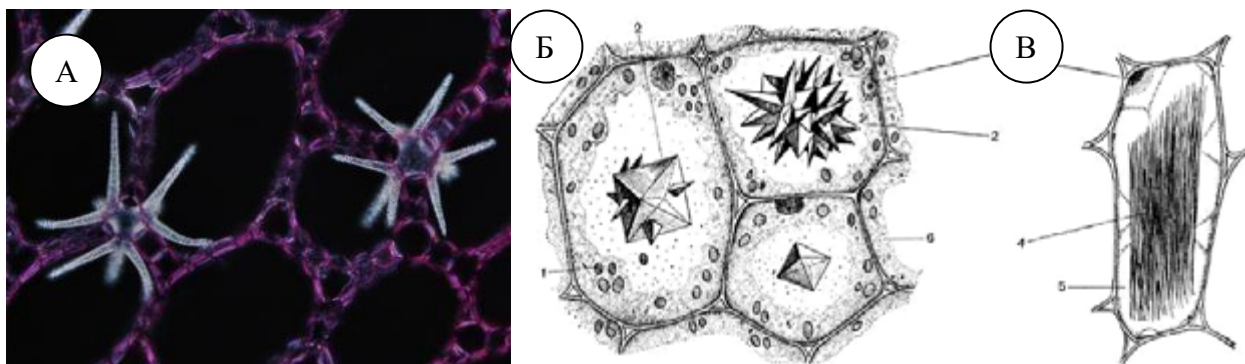


Рис. 5.13. Загальна будова ідіобластів (А) та кристали (друзи) оксалату кальцію (Б) і рафіди – голчасті кристали (В)

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

У деяких клітинах гіподерми, що межують з мезофілом, зустрічаються гронавидні утворення – цистоліти. Це клітина, що розрослася, а всередині неї накопичується вуглекисле вапно (рис. 5.14.)

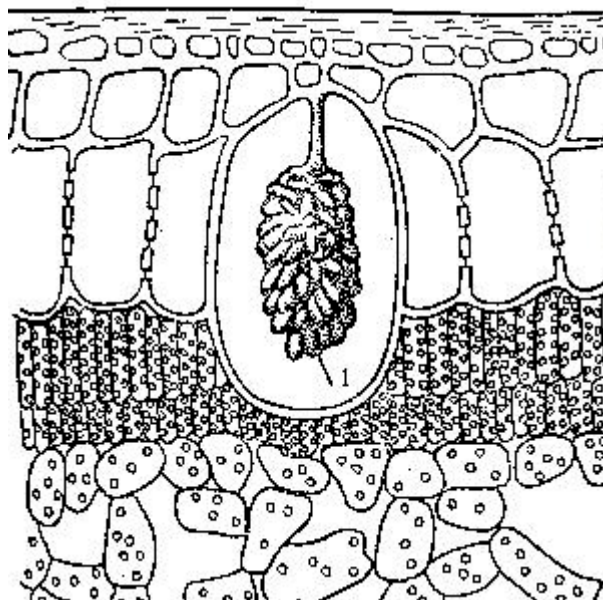


Рис. 5.14. Цистоліт (1) у мезофілі листка фікуса (*Ficus elastica*)

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Проте, яка ж роль кристалів у видільній системі рослин? Логічно припустити, що їхня роль зводиться до нейтралізації надлишку кальцію у рослині. Кальцій у великих кількостях знаходиться у бруньках, з яких легко поглинається рослиною, а надмірна його кількість негативно впливає на неї,

тому що іони кальцію переущільнюють цитоплазму, знижуючи обмін. Рослина зв'язує його наявними кислотами: щавлевою та вугільною. Невеликі кількості кристалів відкладаються у листках, яке, опадаючи під час листопада, звільняє рослину від надлишку кальцію. Водночас, є й інший механізм – деякі рослини накопичують так звані «дубильні речовини» (від слова "дуб" – оскільки містить у своїй корі їх великі кількості). Дубильні речовини утворюють складні сполуки із білками, тому на цій властивості і засновано дублення шкіри. Під впливом особливих ферментів дубильні речовини рослин можуть розпадатися на цукор та інші сполуки, наприклад, таніни (терпкий смак танінів в чаї). У рослинах вони, вірогідно, відіграють захисну роль, захищаючи їх від мікроорганізмів, та приймають участь у реакціях окислення при диханні. Особливо багатими на дубильні речовини є гали – нарости на листках дуба, які викликаються личинками комах (рис. 5.15.). Якщо взяти краплю соку з галів і додати до нього декілька крапель 0,5% розчину хлориду заліза (III), то у результаті реакції утворюється темнозabarвлена речовина, відома як чорнило. Тому, задовго до розвитку промисловості анілінових барвників чорнило готувалося саме за цим способом – з галів.



Рис. 5.15. Гали на дубових листках

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Секреторні компартменти (вмістилища) є порожнинами всередині рослини, що заповнені секретом. Вони дуже різноманітні за формою та походженням. *Схізогенні компартменти* утворюються внаслідок розходження клітин та формування великого міжклітинника, вистеленого живими епітеліальними клітинами, які утворюють речовини, що заповнюють порожнину компартмента (рис. 5.16.). Схізогенні компартменти можуть мати форму довгих витягнутих каналів, що утворюють зв'язкову систему у тілі рослини (смоляні ходи хвойних, ефіроолійні канали зонтичних, аралієвих). Зустрічаються і короткі компартменти схізогенного походження (ефіроолійні компартменти у листках евкаліпту, слизові компартменти). До них відносяться смоляні ходи хвойних та деяких складноцвітих. Смола має бактерицидні властивості, а також захищає рослини від поїдання травоядними тваринами (рис. 5.17.).

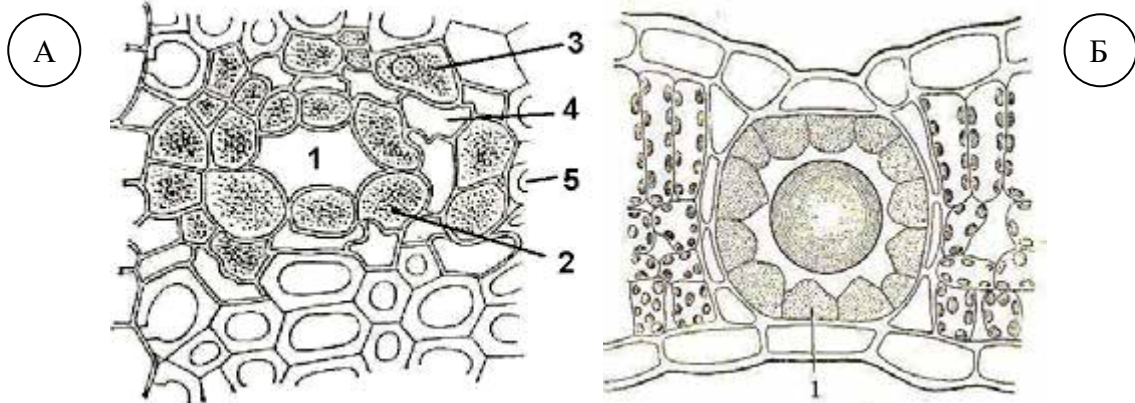


Рис. 5.16. Схізогенний смоляний хід деревини сосни (*Pinus sylvestris*) (А): 1 – міжклітина порожнина; 2 – епітелій; 3 – живі паренхімні клітини; 4 – тонкостінні мертві роздавлені клітини; 5 – трахеїди та схізогенне вмістище ефірних олій на поперечному зрізі листка звіробою продірявленого (*Hypericum perforatum*) (Б)

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

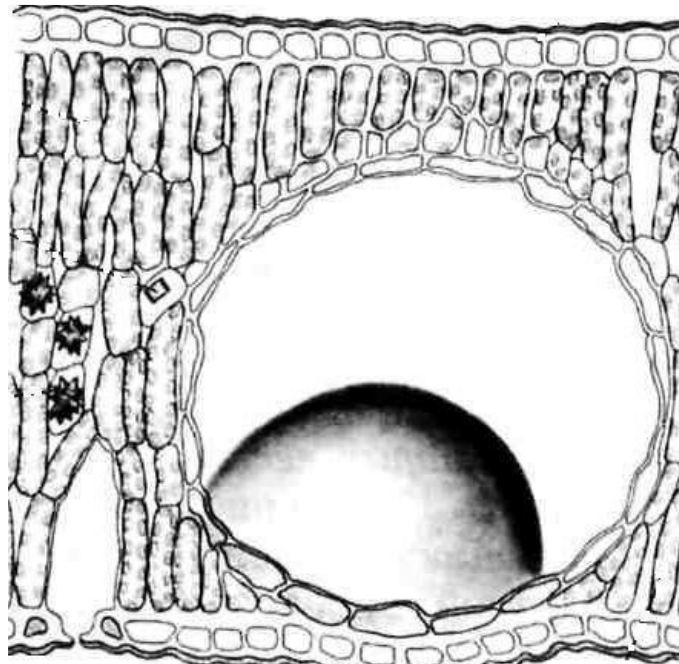


Рис. 5.17. Схізогенний компартмент у мезофілі листків евкаліпту (*Eucalyptus*)

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Лізигенні компартменти утворюються у результаті розчинення групи клітин після накопичення ними речовин, наприклад ефіроолійні компартменти у навколопліднику цитрусових (рис. 5.18.)

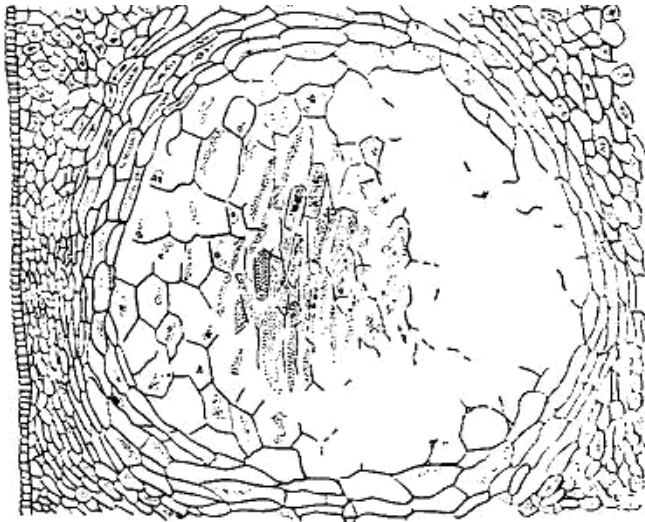


Рис. 5.18. Лізигенне ефіроносне вмістилище навколопліднику мандарину (*Citrus reticulata*)

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Часто у рослин зустрічаються компартменти змішаного походження – схізолізигенні (рис. 5.19.).

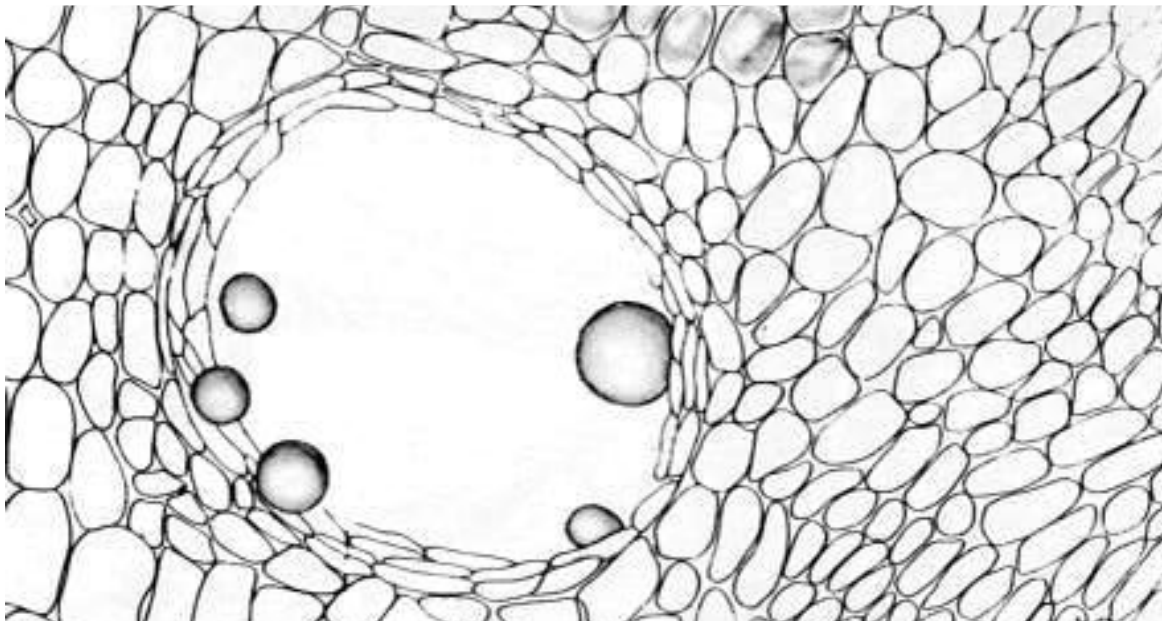


Рис. 5.19. Схізолізигенний компартмент зі смолою та ефірною олією кореня оману (*Inula*)

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Млечники або молочники (молочні трубки) – живі клітини, що містять у вакуолях молочний сік або латекс. Латекс це емульсія білого, рідше помаранчевого або червоного кольору. До складу молочного соку входять вуглеводи (крохмальні зерна у молочайних, цукри – у складноцвітих), білки (у фікуса), жири, слиз, дубильні речовини, ефірні олії, каучук. Серед каучуконосів промислове використання має тропічна гевея бразильська (*Hevea brasiliensis*), в

молочному соці якої міститься до 40-50% каучуку. Членисті молочники складаються з багатьох клітин, протопласти та вакуолі яких злилися в єдину розгалужену систему (складноцвіті, макові). Нечленисті молочники утворені однією гігантською клітиною, що пронизує всю рослину (тутові, молочайні) (рис.5.20.).

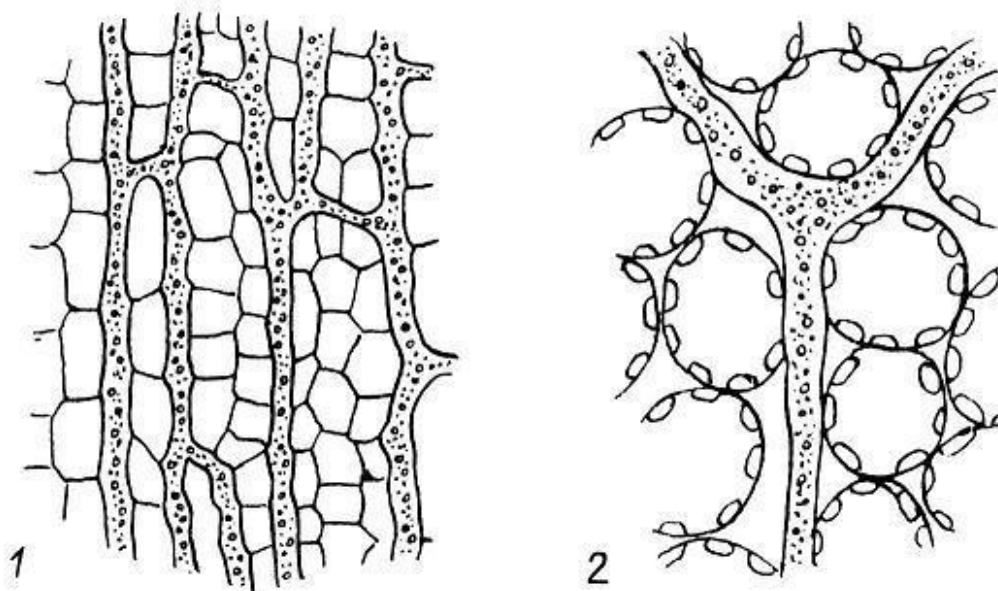


Рис. 5.20. Молочники: 1 – членистий молочник кореня кульбаби (*Taraxacum officinale*) у поздовжньому розрізі; 2 – нечленистий молочник

<https://ua.wikipedia.org/wiki/>

Лабораторна робота № 21 Виявлення гутти, каучуку та алкалоїдів

Деревні види рослин синтезують значну кількість захисних речовин вторинного обміну – живиця у хвойних; таніни або дубильні речовини, алкалоїди тощо. Особливо багатою на таніни є кора ялини, ялиці, сосни, дуба, осики, скумпії. Гутта і каучук синтезуються у специфічних утвореннях –молочниках (у гваюли *Parthenium*), хлоренхіми листків та кори. Особливо багато каучуку міститься у молочниках тропічного дерева гевеї (20–60 % на суху масу) та у дерева помірної зони гваюли (понад 10 %). Латекс на повітрі окислюється і перетворюється на гутту чи гуттаперчу. Водночас, каучук утворюють лише покритонасінні дводольні, більшість відноситься до сімейства молочайних (гевея), тутових, складноцвітих (гваюла, кок-сагиз та ін.), бересклетових (бересклет європейський і бородавчастий) тощо.

Алкалоїди (кофеїн, хінін, стрихнін та ін.) – рослинні луги, що містять нітроген. Багато алкалоїдів у різних частинах деревних рослин: хінному дереві, тисі ягідному, кавовому дереві, бузині чорній, лосі, вовчому лику, рокитнику і т.д.

Мета роботи: виявити та охарактеризувати речовини вторинного синтезу: гутти, каучуку та алкалоїдів у різних видів деревних та декоративних рослин.

Предмети і матеріали. предметне та покривне скло, воронки та фільтри, мікроскоп, водяна баня, слабкий розчин оцтової кислоти, йод в йодистому калії, черешки, кора і корінь дослідних рослин.

Хід роботи:

1. Виявлення гутти. Підібрати невеликі шматочки коренів бруслини, помістити в пробірку з водою на водяній бані та прокип'ятити протягом 5 хв. Після охолодження дістати шматочки кори та обережно їх розірвати. Між розірваними частинами шматочків кори утворюються нитки гутти. Замалювати.

2. Виявлення каучуку. Помістити краплю соку з черешка листка фікусу на предметне скельце, накрити покривним склом і розглянути при великому збільшенні мікроскопа. У полі зору можна побачити численні крапельки каучуку. Щоб викликати коагуляцію емульсії каучуку, необхідно протягти через препарат під покривним склом кілька крапель оцтової кислоти. Утворюються пластівці каучуку, що випали з латексу. Це якісна реакція на виділення каучуку з молочного соку каучуконосів. Замалювати краплі каучуку та пластівці, що випали з латексу.

3. Виявлення каучуконосів. Взяти невеликі шматочки кори вовчого лика (вовчі ягоди) розмочені у воді, роздавити їх за допомогою скляної палички на фарфорової підложці. Змочити отриману кашу розчином йоду у йодистому калії. З'являється коричнево-червоне забарвлення, яке характеризує наявність алкалоїдів у тканинах. Провести таку ж реакцію із кімнатними рослинами, що не мають алкалоїдів. Замалювати.

Висновки:

Контрольні питання?

1. Що таке вторинні метаболіти рослин?
2. Яку роль відіграють дубильні речовини і таніни у стійкості рослин до стресових чинників?

Лабораторна робота № 22

Перетворення запасних речовин у пагонах деревних рослин у зимовий період

П. А. Генкель та Е. З. Окніна розробили та запропонували здійснювати діагностику морозостійкості деревних рослин за глибиною спокою їхніх тканин та клітин. Дійсно, взимку деякі запасні речовини піддаються перетворенням, і в клітинах накопичуються сполуки, що підвищують їхню стійкість до низьких температур. Даний метод дозволяє оперативно визначити ступінь відокремлення протоплазми в клітинах, зникання плазмодесм, змін біохімічного складу

речовин. Такі процеси відбуваються в осінньо-зимовий період у всіх деревних рослин, але різниця між морозостійкими і нестійкими видами полягає в різній інтенсивності і виразності цих процесів. Так, у зимостійких видів у глибокому спокої у клітинах бруньок повніше йде відокремлення протоплазми і зникання плазмодесм, повністю вивільняється крохмаль, перетворюючись на цукру та жири.

У той час як у незимостійких видів відокремлення протоплазми і зникання плазмодесм виражено слабкіше і не весь крохмаль перетворюється на цукор і жири.

Мета роботи: оцінити ступінь перетворення запасних речовин у бруньках деревних рослин різних груп стійкості.

Предмети і матеріали. Предметні та покривні скельця, пінцети, препарувальні голки, бритви, мікроскоп, розчин Люголя, спиртовий розчин α -нафтолу, концентрована сірчана кислота, розчин судану III, гліцерин, бруньки дослідних рослин.

Хід роботи:

1. Реакція на крохмаль. Відібрати тонкі зрізи бруньок деревних видів рослин осики та ясеню зеленого помістити в розчин Люголя на годинниковому склі на 5 хв. Розглянути зріз під мікроскопом. За наявності крохмалю з'являється синьо-фіолетове або чорне забарвлення. Якщо забарвлення інтенсивно чорне, то розчин Люголя доцільно розбавити. Вміст крохмалю оцінити у балах за 5-бальною шкалою, де 1 бал – колір жовтий чи коричневий (крохмаль відсутній), а 5 балів – синьо-фіолетовий колір (крохмаль багато). Необхідно враховувати забарвлення не однієї клітини, а середнє забарвлення у декількох полях зору на декількох різних зрізах. Замалювати.

2. Реакція на цукри. Тонкі зрізи бруньок деревних видів рослин забарвлюють на предметному склі розчином α -нафтолу. Додати 1-2 краплі концентрованої сірчаної кислоти. Наявні цукри забарвлюються у кольори від рожевого до темно-малинового. Оцінити кількість цукрів по 5-бальній шкалі. Замалювати.

3. Реакція на жири та ліпоїди. Помістити тонкі зрізи бруньок на 5 хв. у розчин барвника судану III, потім перенести на предметне скельце в розчин гліцерину і розглянути під мікроскопом. Жири забарвлюються в яскраво-червоний або помаранчевий кольори. Провести оцінку вмісту жирів по 5-бальній шкалі. Замалювати.

Висновки:

Контрольні питання?

1. Дайте визначення морозостійкості деревних рослин?
2. У який період року пагони деревних видів рослин містять максимальну кількість крохмалю?

Питання для обговорення та самоперевірки до Розділу 5

1. Назвіть речовини вторинного походження у рослин.
2. У яких органах рослин локалізовані речовини вторинного походження?
3. Чому речовини вторинного походження використовуються в систематиці рослин?
4. Які біохімічні зміни у тканинах відбуваються під час переходу деревних рослин у стан глибокого фізіологічного спокою?
5. Чим відрізняються бруньки рослин у стані глибокого фізіологічного спокою та бруньки у стані вимушеного спокою?
6. У чому особливості виділення рослинних організмів порівняно з тваринами?
7. Поясніть, чому в ідіобластах краще розвинена ЕПС та комплекс Гольджі?
8. Чому широко поширена кімнатна рослина бальзамін має народну назву «ванька мокрий»?
9. Як тільки на березі розпуститься листя, виділення соку біля берези припиняється. Чим це можна пояснити?
10. Росянка круглиста, росянка королівська, пухирчатка звичайна, альдрованда пухирчаста. Яка біологічна особливість поєднує ці різноманітні рослини?

РОЗДІЛ 6 РЕЗИСТЕНТНІСТЬ РОСЛИН ТА ОКИСНИЙ СТРЕС

Тема 6.1. Окисний стрес та його наслідки

Окисний стрес розвивається внаслідок надмірного утворення активних форм кисню (АФК), які ушкоджують структурні компоненти клітини, що може призводити до розвитку патологічного стану у живому організмі (рис 6.1.).



Рис. 6.1. Окисний стрес

<https://bcmukraine.com.ua/data/media/2021/10/28/58-broshura-oksydatyvnyi-stres.pdf>

Більш значне підвищення вмісту АФК супроводжується цитотоксичними ефектами (рис. 6.2.), зумовленими в основному ініціацією ланцюгових реакцій вільнорадикального окиснення, зокрема пероксидним окисненням ліпідів (ПОЛ) та ушкодженням ДНК (рис. 6.3.).

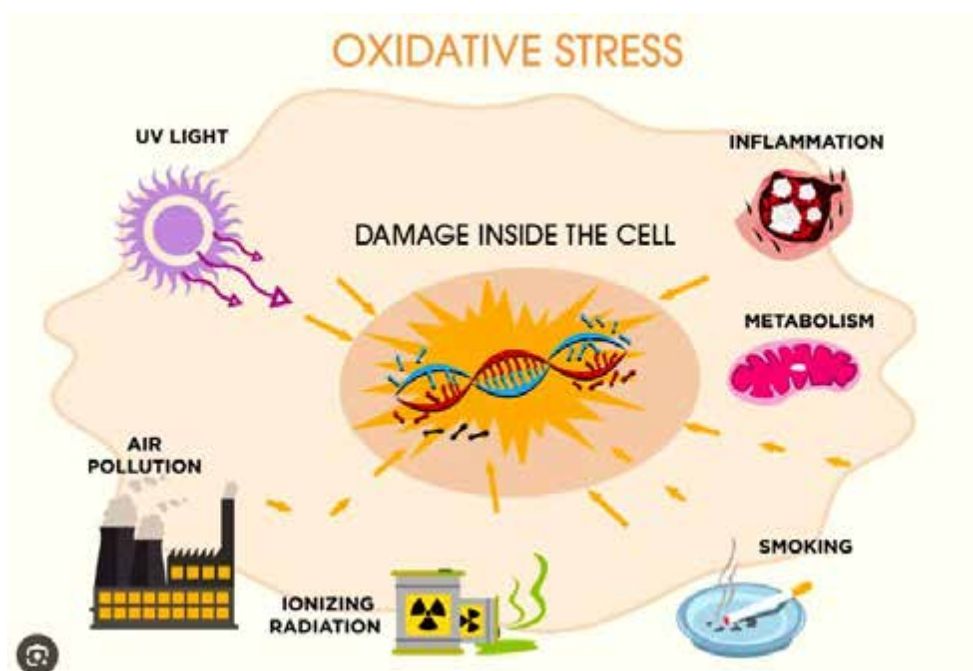


Рис. 6.2. Індуктори окисного стресу

<https://saladinazad.medium.com/what-is-oxidative-stress-and-how-does-it-affect-our-health-da11c424be4c>

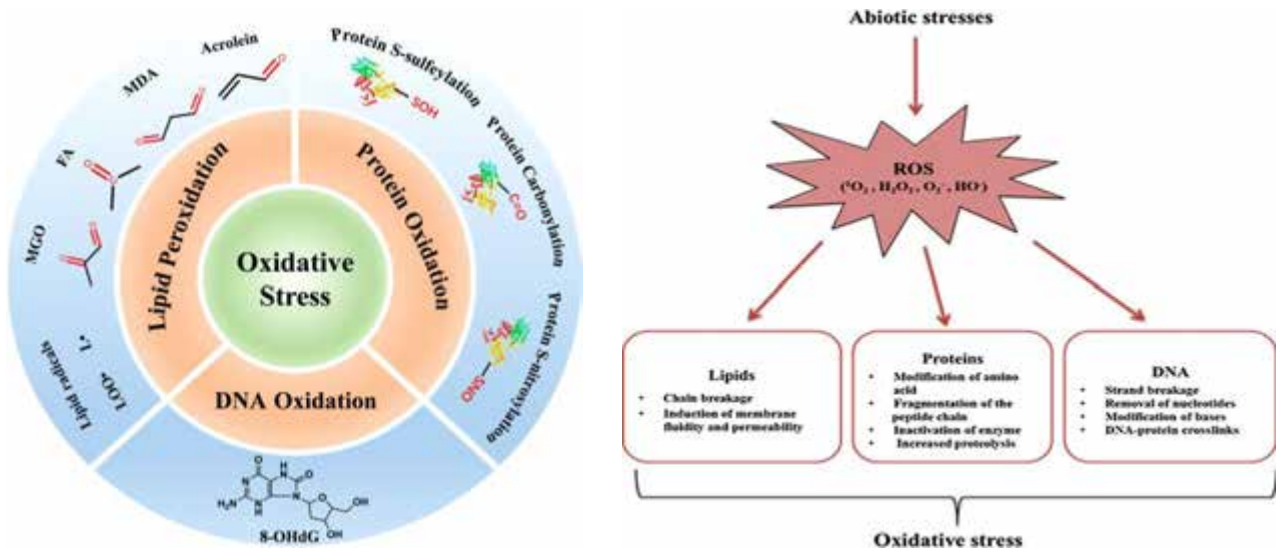


Рис. 6.3. Наслідки окисного стресу

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2023/cc/d3cc00878a/unauth>
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750018305870>

Найкращим субстратом для пероксидного окиснення є ліпіди, що включають ненасичені жирні кислоти, особливо фосfolіпіди, які входять до складу як плазматичної, так і мітохондрійної мембран. Процес пероксидного окиснення ліпідів відбувається за ланцюговим механізмом, який розвивається спонтанно і продовжується до обриву ланцюга (рис. 6.4.).

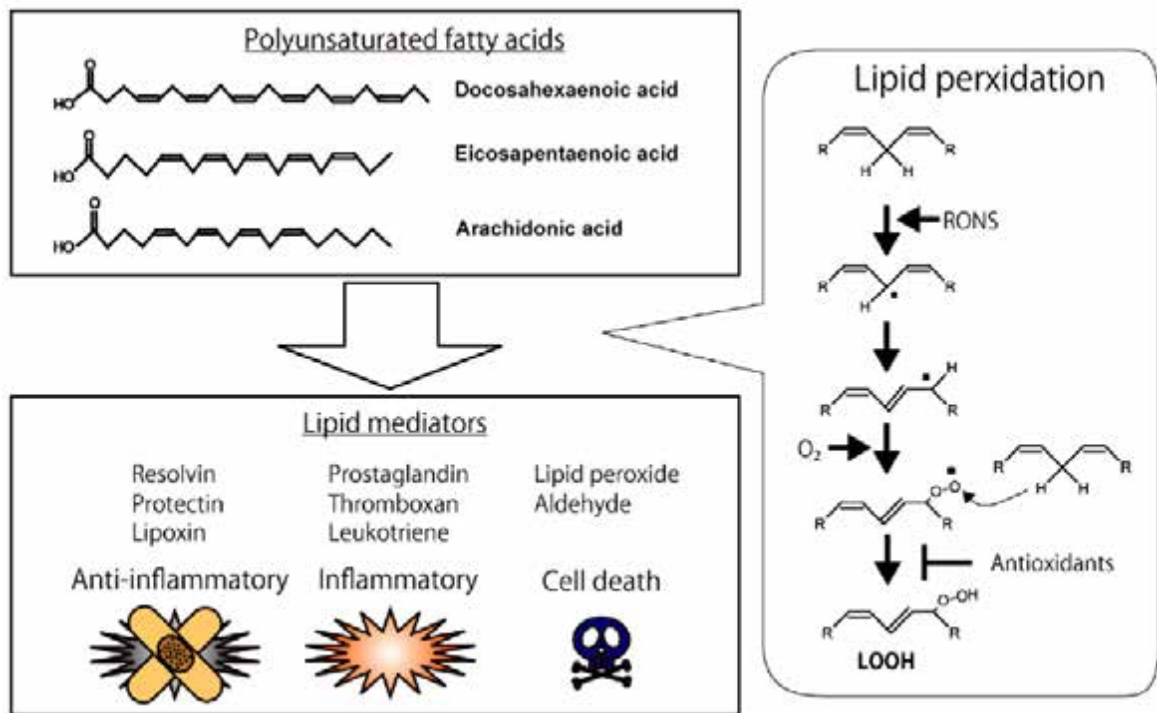
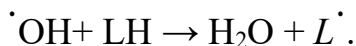


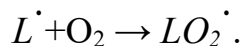
Рис 6.4. Пероксидне окиснення ліпідів

<https://www.mdpi.com/2079-7737/10/5/399>

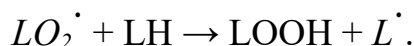
Ініціація ланцюгової реакції ПОЛ починається з проникнення у ліпідний шар мембрани вільного радикалу, зокрема, гідроксильного радикалу. При цьому, у ліпідному шарі мембрани утворюються ліпідні радикали:



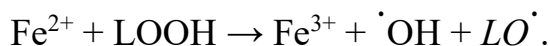
Далі радикал жирної кислоти $\text{L}\cdot$ взаємодіє із молекулярним киснем O_2 та перетворюється на пероксидний радикал жирної кислоти ($\text{LO}_2\cdot$):



При взаємодії пероксидного радикалу жирної кислоти з молекулою ненасиченої жирної кислоти відбувається утворення гідропероксида жирної кислоти (LOOH) і нового радикала жирної кислоти:



Останні дві реакції постійно чергуються і запускають так звану ланцюгову реакцію ПОЛ. Взаємодія Fe^{2+} з гідропероксидом ліпідів сприяє розгалуженню ланцюгів ПОЛ:



Прискорення пероксидного окиснення ліпідів відбувається в тому випадку, коли система клітинної детоксикації АФК не в змозі знищити попередників гідроксил-радикалу, серед яких основним є пероксид водню (рис. 6.5.).

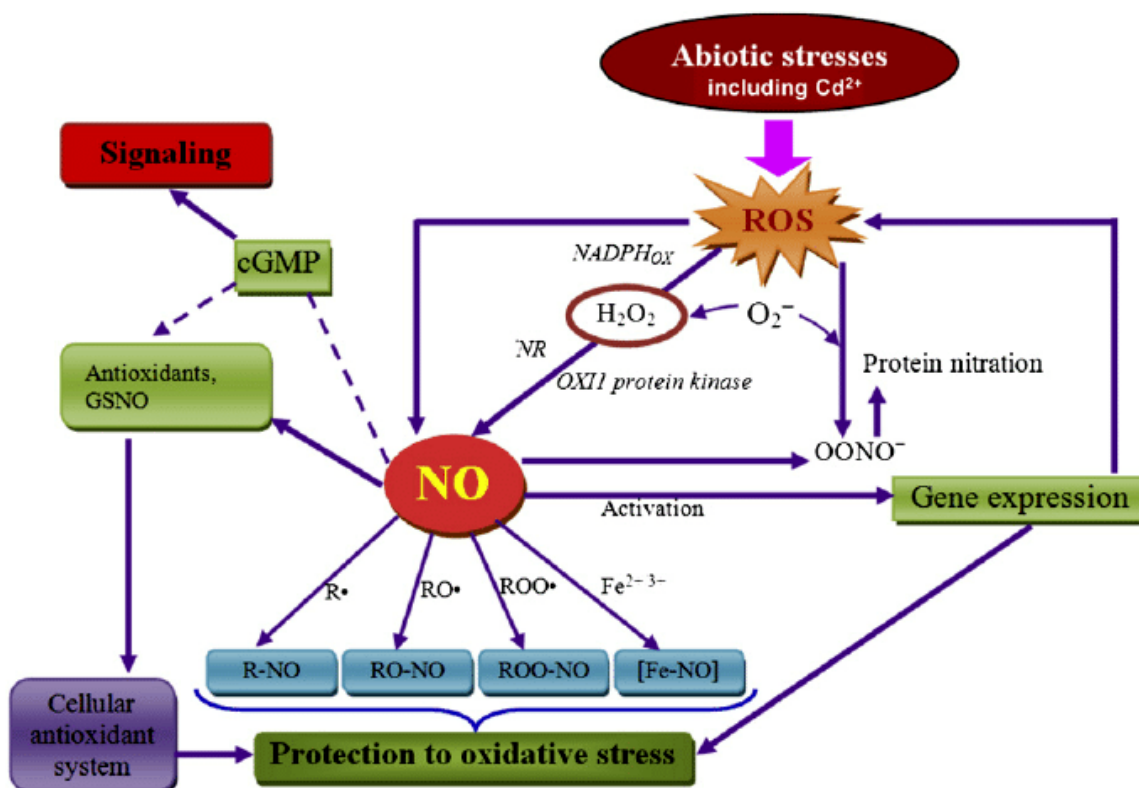


Рис. 6.5. Розвиток окисного стресу

https://www.researchgate.net/figure/Possible-mechanisms-of-NO-induced-oxidative-stress-protection_fig1_234122953

Таким чином, при розпаді пероксидів ліпідів утворюються вільні радикали, які ініціюють розгалуження ланцюгових вільнорадикальних реакцій, а також утворення ненасичених альдегідів, що володіють гено- та цитотоксичною дією.

За дії окисного стресу в клітинах мішенями дії АФК стають також ядерна і мітохондрійна ДНК, що призводить до розривів ланцюгів ДНК, окисної модифікації нуклеотидів та виникнення хромосомних аберацій. Пошкодження ДНК виявляються в утворенні гідроксильованих основ (8-гідроксигуаніну, 8-гідроксиаденіну), модифікації основ з подальшими хімічними перетвореннями, зокрема, розривом ароматичного кільця та утворенням гліколей. У тих випадках, коли АФК продукуються поза клітиною (інкубація клітин у середовищі з пероксидом водню) пошкодження ДНК пригнічувалося у присутності каталази, що вказувало на пошкодження ДНК пероксидом водню (рис.6.6.).

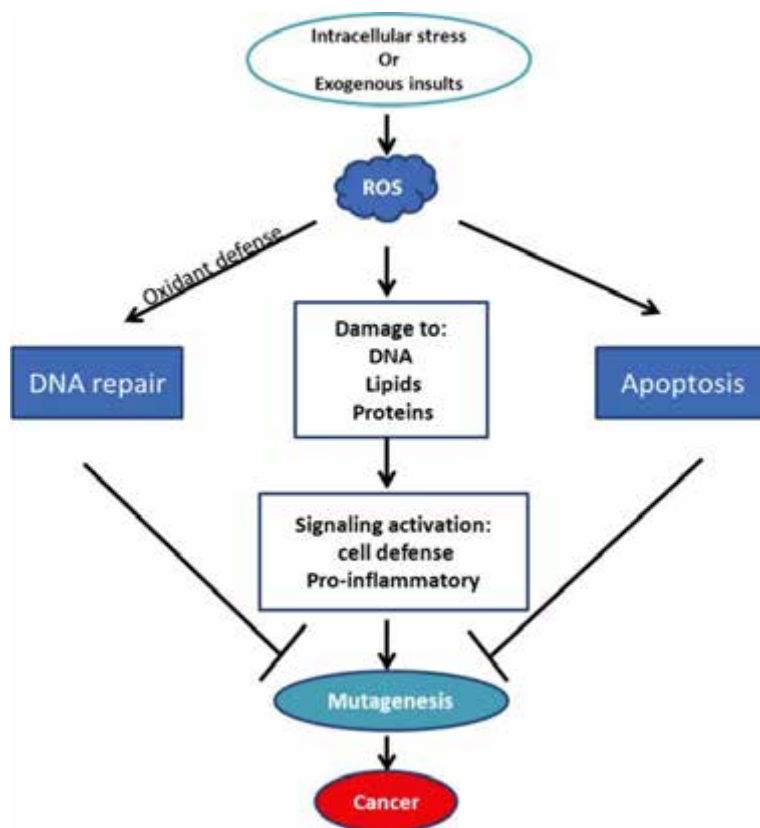


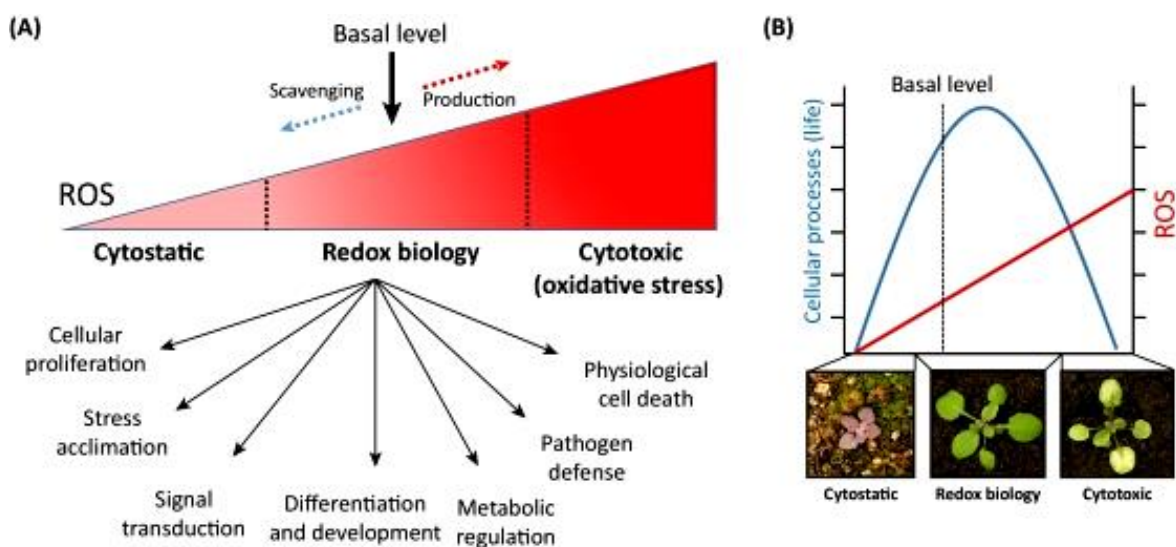
Рис. 6.6. Внутрішньоклітинні механізми розвитку окисного стресу

https://www.researchgate.net/figure/Possible-mechanisms-for-induction-of-oxidative-stress-and-DNA-damage-and-the-roles_fig2_224936305

Пошкодження ДНК при окисному стресі можуть бути пов'язані із впливом АФК на деякі метаболічні процеси через тригерні механізми, що призводять до підвищення концентрації цитозольного Ca^{2+} , який активує ендонуклеази, а ті, у свою чергу, розщеплюють ДНК за механізмом апоптозу. Слід відмітити, що більшість продуктів окисної модифікації ДНК характеризуються мутагенною та цитотоксичною дією, що в свою чергу призводить до розвитку в організмі різноманітних патологій.

Відомо, що АФК можуть бути модуляторами клітинної загибелі шляхом як некрозу, так і апоптозу. Некроз, на відмінну від апоптозу є непрограмованою, патологічною формою загибелі, якій підлягають не окремі клітини, а клітинні угруповання. Цей процес супроводжується набуханням клітинних органел, розривом мембран, невпорядкованою деградацією ДНК, вивільненням ферментів у позаклітинне середовище та розвитком ексудативного запалення. Апоптоз є запрограмованою клітинною загибеллю і забезпечує підтримання тканинного гомеостазу в фізіологічних та патологічних умовах. Запуск апоптозу в клітині може бути викликаний як АФК, що утворюються в мітохондріях, так і АФК, які потрапляють ззовні.

Таким чином, окисний стрес може виникати при зниженні рівня антиоксидантів та збільшення кількості АФК у клітині, внаслідок чого порушується прооксидантно-антиоксидантна рівновага. Мішенями окисного стресу є всі типи біологічних молекул, включаючи ДНК, білки та ліпіди. Окисний стрес супроводжується порушенням внутрішньоклітинних метаболічних зв'язків та шляхів сигнальної трансдукції. Після дії стрес-агента клітина може або відновити структурно-функціональний стан та життєдіяльність, або загинути шляхом апоптозу чи некрозу. На продукцію АФК можна впливати направлено або шляхом пригнічення їх продукції, що є необхідним для попередження багатьох патологічних станів, які супроводжуються розвитком окисного стресу, або шляхом посилення їх продукції з метою ініціації загибелі клітин зі значними порушеннями геному, зокрема, пухлини (рис. 6.7.).



Trends in Plant Science

Рис. 6.7. Участь АФК у регуляції і забезпеченні фізіологічних процесів
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138516301121>

Однак, крім цито- та генотоксичної дії АФК, вони також забезпечують регуляцію процесів росту та диференціації клітин, формування адаптаційної відповіді на дію зовнішніх чинників, активацію програми загибелі для

вибіркового видалення ушкоджених клітин, а також процеси сигнальної трансдукції та регуляції окисно-відновлювального гомеостазу.

Тема 6.2. Шляхи і механізми утворення активних форм кисню у клітині

Вільні радикали – це атоми чи групи хімічно зв'язаних атомів, які містять неспарені електрони на зовнішній орбіталі, що і визначає їх підвищену хімічну активність. Як, відомо, у ході аеробного метаболізму молекулярний кисень повністю відновлюється до води шляхом приєднання чотирьох електронів. Завдяки особливостям електронної структури молекула кисню може зазнавати поетапного одноелектронного відновлення та переходити у проміжний вільнорадикальний стан.

Активні форми кисню (АФК) – це похідні молекулярного кисню, які утворюються при його відновленні менш ніж чотирма електронами. АФК можуть виникати безпосередньо у біологічних системах, проникати із найближчого середовища, причому їх утворення посилюється внаслідок дії абіотичних чинників: УФ-опромінення, іонізуючої радіації, ксенобіотиків, важких металів, канцерогенів (рис. 6.8.).

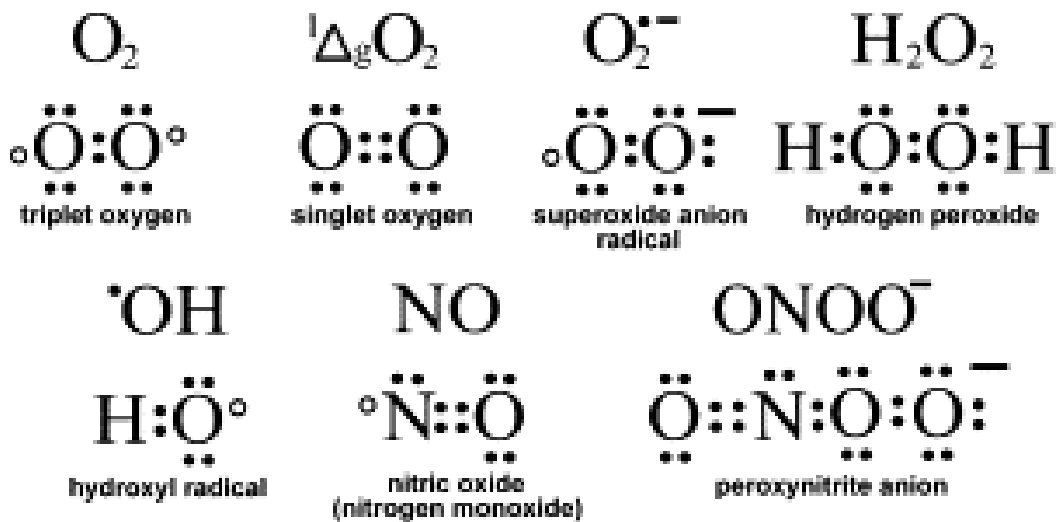


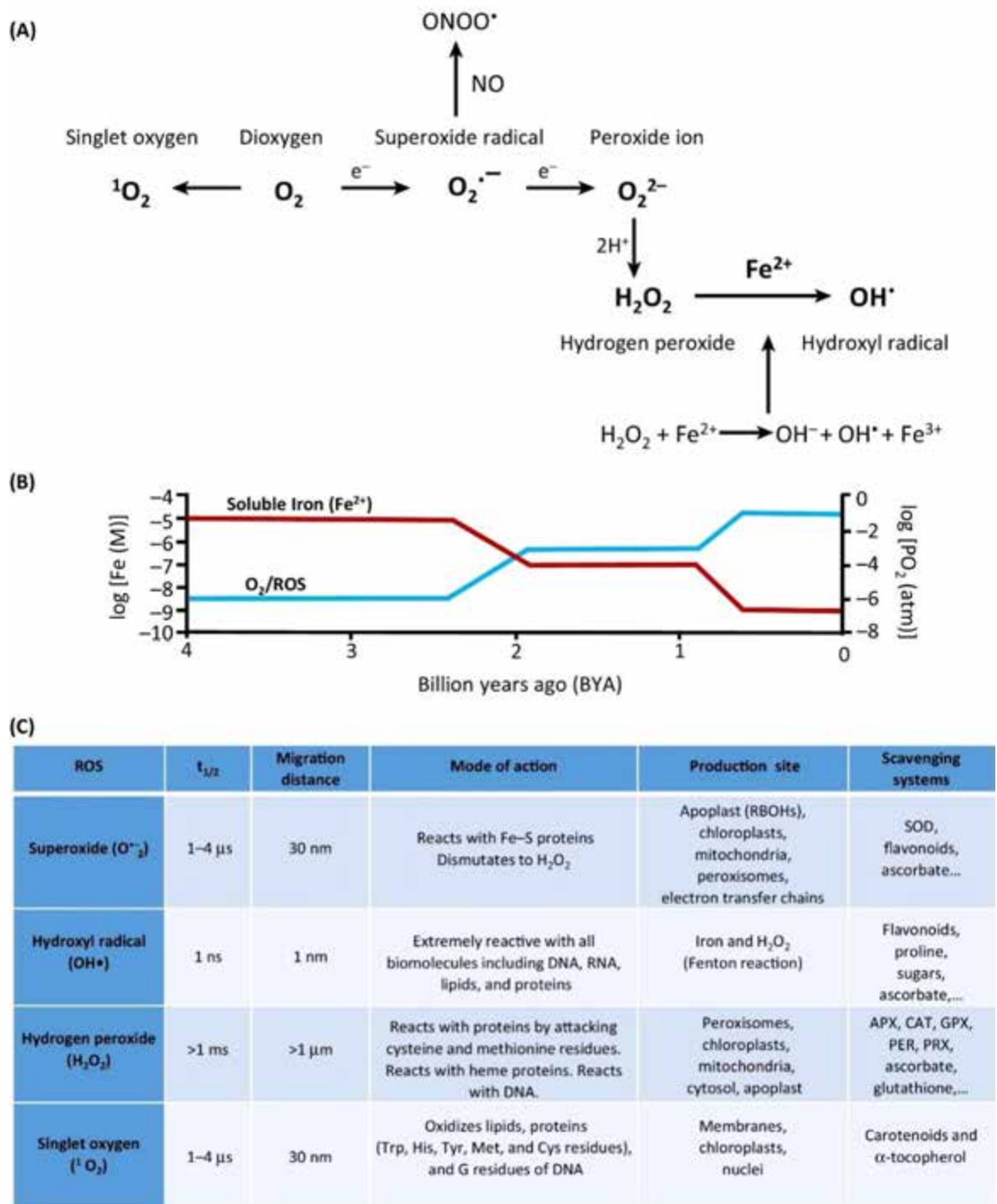
Рис. 6.8. Вільні радикали кисню і азоту

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098847214001750>

Найбільш поширеними АФК у живій клітині є супероксидний аніон-радикал ($O_2^{\bullet -}$), гідроксильний радикал ($\cdot OH$), пероксид водню (H_2O_2), синглетний кисень (1O_2) та оксид азоту ($\cdot NO$).

Супероксидний аніон-радикал ($O_2^{\bullet -}$) утворюється внаслідок приєднання одного електрона до молекули кисню. Радикал $O_2^{\bullet -}$ - більш реакційноздатна сполука, ніж O_2 , час його життя в біологічних субстратах становить 10^{-6} с. Супероксидний аніон-радикал утворюється на двох ділянках електрон-транспортного ланцюга локалізованого на внутрішній мітохондріальній мембрані на рівні НАДН-дегідрогенази та коензиму Q (комплекси I і III). Окрім того, у клітині радикал $O_2^{\bullet -}$ є проміжним продуктом багатьох біохімічних

реакцій – окиснення тіолів, флавінів, хінонів, катехоламінів, катаболізму ксенобіотиків (рис. 6.9.).



Trends in Plant Science

Рис. 6.9. Схема утворення різних форм вільних радикалів
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138516301121>

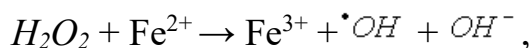
Через наявність заряду супероксидний аніон-радикал не проникає через мембрани. Радикал $O_2^{\bullet-}$ - відносно слабкий окиснювач і в багатьох біологічних системах він є донором електронів та відновником сполук. При взаємодії з протоном супероксид перетворюється на гідропероксидний радикал (HO_2^{\bullet}). У

матриці мітохондрій знаходиться супероксиддисмутаза, яка ініціює швидке перетворення супероксиду на H_2O_2 , який може виходити через мембрани мітохондрій у цитоплазму.

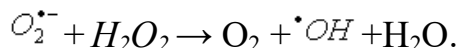
Отже, супероксид є вільнорадикальним інтермедіатом, що утворюється у реакціях послідовного відновлення кисню та бере участь у генерації гідропероксидного і гідроксильного радикалів та перекису водню.

Приєднання двох електронів до молекули O_2 або одного електрона до супероксидного радикалу призводить до утворення H_2O_2 . Пероксид водню є найменш токсичним та довгоживучим (10^{-2} с) активним кисневим метаболітом і належить до окиснювачів середньої сили. Генерація H_2O_2 відбувається, в основному, на ядерній, плазматичній та мітохондрійній мембранах. Цей метаболіт утворюється у ферментативних реакціях за участі оксидаз, які переносять два електрони на молекулу кисню (ксантинооксидаза, оксидаза L-амінокислот тощо), а також у реакції дисмутації, яку каталізує супероксиддисмутаза (СОД). Пероксид водню легко проникає через гідрофобні мембрани і здатен дифундувати у клітині на значні відстані. H_2O_2 недостатньо активний для окиснення органічних молекул у водному оточенні, однак є джерелом утворення гідроксильного радикалу, який утворюється у реакціях Фентона і Хабер-Вайса.

Найбільш реакційноздатним окисником серед усіх кисневих метаболітів, що утворюються у біологічних системах, є гідроксильний радикал ($\cdot OH$). Гідроксил-радикал утворюється переважно у реакції Фентона за участю металів змінної валентності, головним чином Fe^{2+} :



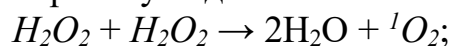
а також у реакції Хабер-Вайса:



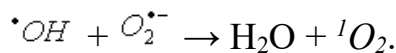
Гідроксильний радикал є найбільш токсичною сполукою, що характеризується надзвичайно високою реакційною здатністю і коротким часом його життя ($\sim 10^{-9}$ с). Хімічна активність радикалу $\cdot OH$ реалізується у реакціях трьох типів: 1) відрив атома водню від молекули, 2) передача електрона на іншу молекулу, 3) приєднання до молекули по подвійному зв'язку. Дифузійний пробіг гідроксильних радикалів становить біля двох молекулярних діаметрів, тому гідроксильні радикали спричиняють пошкодження безпосередньо у місцях свого утворення. Окисна дія $\cdot OH$ виявляється у прямому окисненні молекул, зокрема, ДНК, та ініціації ланцюгових вільно-радикальних реакцій, в тому числі ПОЛ.

Синглетний кисень (1O_2) відрізняється від молекулярного кисню наявністю на зовнішніх молекулярних орбіталях двох неспарених електронів з протилежно направленими спінами. Тому синглетний кисень характеризується високою електрофільністю і підвищеною хімічною реакційною здатністю у порівнянні з молекулярним киснем. Енергія синглетного кисню при його вступі у хімічну реакцію вивільнюється або передається на іншу молекулу. Час життя синглетного кисню у біологічних субстратах становить 10^{-6} с. Синглетний

кисень утворюється в організмі у ході багатьох ферментативних реакцій, зокрема, при розщепленні перекису водню каталазою:



та у реакції Хабер – Вайса, тобто при взаємодії гідроксильного радикала з супероксид-аніон радикалом:



Оксид азоту (*NO*) має неспарений електрон, що надає йому високої реакційної здатності. Час життя *NO* становить 6 - 10 с, після чого він перетворюється за участі кисню і води в нітрати та нітрити. Оксид азоту утворюється в результаті окиснення киснем гуанідинової групи L-аргініну, цю реакцію каталізує фермент NO-синтаза. Молекулярні основи фізіологічних ефектів *NO* пов'язані з реакціями нітрозилування білків. У випадку утворення великої кількості *NO* останній може реагувати з супероксидним аніон-радикалом, утворюючи пероксинітрил (*ONOO⁻*).

Тема 6.3. Антиоксидантна захисна система

Запобігання надмірного синтезу АФК у клітині, нейтралізація їх ушкоджувального впливу та підтримання внутрішньоклітинного гомеостазу забезпечує антиоксидантна захисна система. Ця система включає високо- та низькомолекулярні сполуки, що здатні перетворювати АФК у менш шкідливі сполуки або нейтралізувати джерело їх виникнення.

Антиоксидантні ферменти і низькомолекулярні антиоксиданти локалізовані у різноманітних компартментах клітин. Наприклад, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза локалізовані у мітохондріях та у цитозолі (рис. 6.10.).

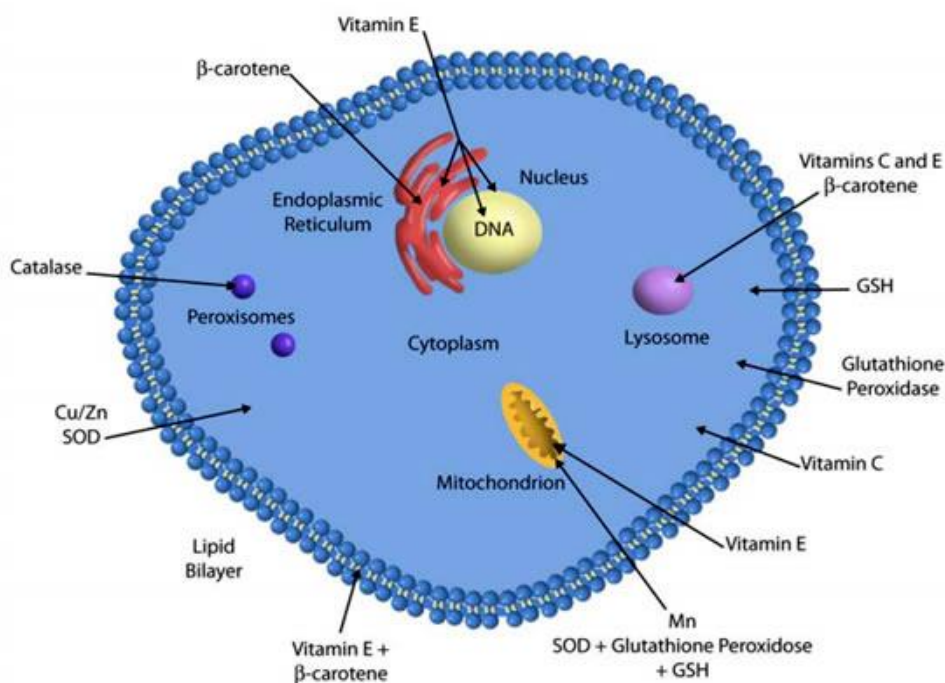


Рис. 6.10. Внутрішньоклітинна локалізація антиоксидантних ферментів
<https://www.news-medical.net/health/Antioxidant-Enzyme-Systems.aspx>

Серед низькомолекулярних антиоксидантів особлива роль належить глутатіону. Відновлений глутатіон бере участь у підтриманні окисно-відновлювальної рівноваги у клітині, що є критичним фактором виживання клітин. Компонентами антиоксидантної системи захисту є також жиророзчинні ендogenous антиоксиданти: вітаміни групи Е (токофероли), убіхінон, вітаміни групи А (ретиноли) та провітаміни групи А (α , β , γ -каротини), вітаміни групи D (кальцифероли), К (філохінони і менахінон), ліпоєва кислота, деякі стероїдні гормони та інші (рис. 6.11.).

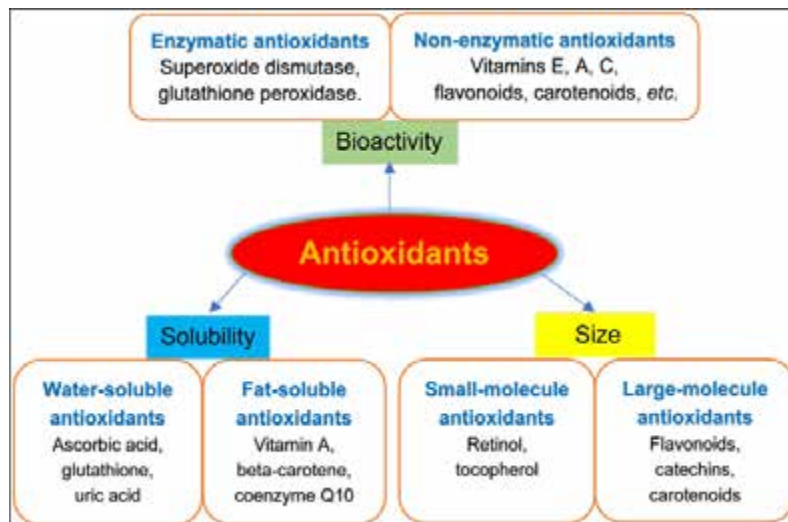


Рис. 6.11. Класифікація антиоксидантів

<https://www.xiahepublishing.com/2572-5505/JERP-2022-00028>

Активні форми кисню, які не були нейтралізовані за участю супероксиддисмутази та каталази, можуть ініціювати ланцюгові реакції перекиснення у мембранах та розвиток окисного стресу (рис. 6.12.).

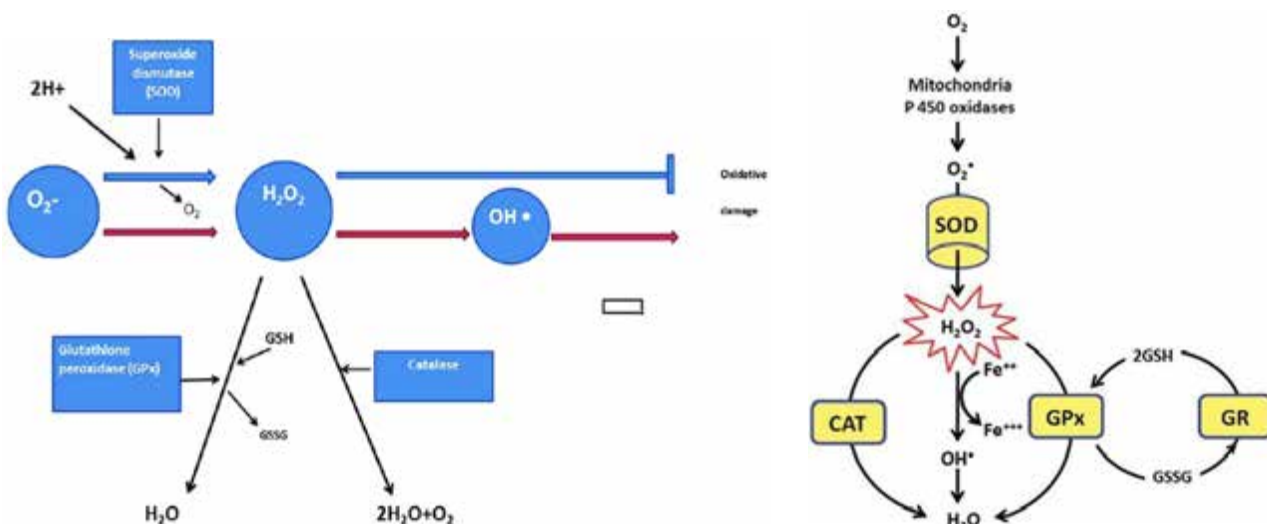


Рис. 6.12. Механізм дії антиоксидантних ферментів

https://www.researchgate.net/figure/Enzymatic-antioxidant-mechanism_fig1_333145622, <https://www.intechopen.com/chapters/65225>

Порушення балансу між процесами утворення АФК та функціонуванням антиоксидантної захисної системи є основним механізмом розвитку окисного стресу у клітині. Центральним учасником реакцій, що призводять до окисного стресу, є супероксид, за участі якого у реакціях утворюється більш реакційноздатний гідроксильний радикал, який відіграє ключову роль у механізмах дії окисного стресу.

Таким чином, за дії біотичних та абіотичних чинників навколишнього середовища у живих організмів розвивається окисний стрес, який супроводжується надмірною продукцією АФК. Для нейтралізації токсичної дії АФК та попередження їх утворення в організмі функціонує система антиоксидантного захисту. Значну роль у розвитку захисних систем та резистентності у рослин відіграють антиоксидантні ферменти.

Лабораторна робота № 23 **Визначення вмісту супероксидних аніон радикалів**

Даний метод базується на здатності НСТ відновлюватись за наявності супероксидних аніон радикалів, які утворюються при взаємодії відновленого нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАДН) та феназинметасульфату (ФМС) за анаеробних умов. Кінцевим продуктом реакції є гідразинтетразолій, до якого відновлюється НСТ.

Мета роботи: Визначити вміст супероксидних аніонів у безклітинній системі за реакцією з нітросинім тетразолієм (НСТ) за допомогою спектрофотометричного методу.

Предмети і матеріали. 60 мкМ НСТ, 16 мкМ ФМС, 0,15 М ЕДТА-фосфатний буфер (рН 7,8), 100 мкМ НАДН у трис-ЕДТА буфері (рН 8,0), 30% H_2O_2 , наночастинки. Хімічні пробірки об'ємом 20 мл, епіндорфи об'ємом 2 мл, хімічні колби і стакани, наконечники, дозатори, аналітичні ваги, рН-метр, мішалка, секундомір, термостат, спектрофотометр.

Хід роботи:

1. Приготувати робочі розчини буферів та реактивів.
2. У дослідну пробу, об'єм якої становить 0,5 мл, додати 60 мкМ НСТ, 16 мкМ ФМС, 0,15 М ЕДТА-фосфатний буфер (рН 7,8), а також дослідні зразки наночастинок.
3. Контрольна проба (об'ємом 0,5 мл) має містити попередній склад буферного середовища, однак замість наночастинок внести розчин дистильованої води!
4. Окремо підготувати ще одну дослідну пробу та додати індуктор окисного стресу 30% H_2O_2
5. Далі у контрольну і дослідну пробу додати 100 мкМ НАДН у трис-ЕДТА буфері (рН 8,0).
6. Одразу виміряти поглинання кожної проби через кожні 10 с упродовж 10 хв за кімнатної температури (22-24° С) на спектрофотометрі при довжині хвилі 540 нм.
7. Отримані результати вимірів записати у таблицю 6.1.:

Таблиця 6.1.

E, 540 нм	Термін, с												
	0	0:10	0:20	0:30	0:40	0:50	1:00	1:10	1:20	1:30	1:40	1:50	2:00
К													
H ₂ O ₂													
НЧ 1													
НЧ 2													
НЧ 3													
НЧ 1 + H ₂ O ₂													
НЧ 2 + H ₂ O ₂													
НЧ 3 + H ₂ O ₂													

8. Обрахувати і статистично обробити отримані результати досліджень.
9. Сформулювати і записати висновки:

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю?

1. Характеристика, властивості і біологічна роль супероксидних аніон радикалів.
2. Сучасні методи визначення вмісту супероксидних аніонів.
3. Роль відновників у окисно-відновних реакціях.

Лабораторна робота № 24

Визначення вмісту АФК за використання флуоресцентного зонду

Для визначення вмісту та інтенсивності утворення активних форм кисню в клітинах інформативним є метод із використанням 2',7'-дихлорфлуоресцеїну діацетату (DCF-DA) (флуоресцентний зонд). Саме ця речовина проникає через зовнішню клітинну мембрану, деацилюється внутрішньоклітинними естеразами з утворенням DCFH, яка нефлуоресціює, але під дією внутрішньоклітинних активних форм кисню окиснюється до флуоресцентної форми DCF.

Мета роботи: Оцінити продукування АФК у клітинах за використання флуоресцентної спектрофотометрії та зонду DCF-DA.

Предмети і матеріали. DCFH-DA (кінцева концентрація у пробі 5 мкМ), фосфатний буфер для виділення клітин, живильне середовище для

культивування клітин, 30% H_2O_2 , наночастинки. Хімічні пробірки об'ємом 20 мл, епіндорфи об'ємом 2 мл, хімічні колби і стакани, наконечники, дозатори, аналітичні ваги, рН-метр, мішалка, секундомір, термостат, спектрофлуориметр.

Хід роботи:

1. Приготувати робочі розчини буферів та реактивів.
2. Контрольна проба містить суспензію клітин у відповідному живильному середовищі.
3. До дослідної проби, яка містить суспензію клітин у відповідному живильному середовищі, додати розчин наночастинок.
4. Паралельно підготувати дослідну пробу та додати індуктор окисного стресу 30% H_2O_2
5. Далі до кожної проби у інкубаційне середовище, яке містить клітини (2×10^6 /мл), внести DCFH-DA до кінцевої 5 мкМ концентрації у пробі.
6. Одразу виміряти інтенсивність флуоресценції зонда DCF на спектрофлуориметрі Shimadzu 150 RF (Японія), при довжині хвилі збудження ($\lambda_{збудж}$) – 480 нм і довжині хвилі випромінювання ($\lambda_{випр}$) – 520 нм.
7. Вимірювання інтенсивності флуоресценції зонда DCF проводити у динаміці через кожні 10 хв упродовж 60 хв за кімнатної температури (22-24⁰ С).
8. Отримані результати вимірів записати у таблицю 6.2.:

Таблиця 6.2.

Інтенсивність флуоресценції, ум.од.	Термін, хв						
	0	10	20	30	40	50	60
К							
H_2O_2							
НЧ 1							
НЧ 2							
НЧ 3							
НЧ 1 + H_2O_2							
НЧ 2 + H_2O_2							
НЧ 3 + H_2O_2							

9. Обрахувати і статистично обробити отримані результати досліджень.
10. Сформулювати і записати висновки:

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю?

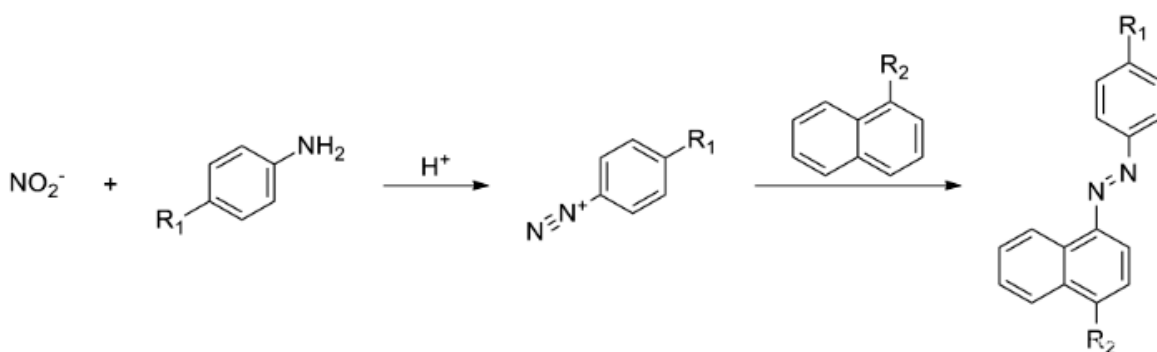
1. До яких АФК виявляє афінність флуоресцентний зонд DCFH-DA?
2. Флуоресцентні методи, які використовують для визначення вмісту АФК.

Лабораторна робота № 25

Визначення вмісту NO у проростках гороху

NO є високореактивним вільним радикалом, який виконує роль вторинного месенджера і є ефекторною молекулою, яка виконує широкий спектр фізіологічних функцій *in vivo*. Період напіврозпаду NO є дуже коротким, існує у формі нітрату і нітриту, відповідно можна концентрацію NO можна розрахувати безпосередньо за концентрацією нітрату і нітриту.

NO легко окислюється до NO_2^- *in vivo* або у водному розчині при цьому утворюється комплексна азосполука червоного кольору. Концентрація азосполуки лінійно залежить від концентрації NO. Концентрацію NO можна розрахувати за значеннями оптичної щільності при 550 нм.



Мета роботи: Визначити вміст NO у проростках гороху за використання Nitric Oxide (NO) Colorimetric Assay Kit (Elabscience, USA). <https://www.elabscience.com/p-nitric-oxide-no-colorimetric-assay-kit-40590.html>

Предмети і матеріали. Бідистильована вода, фізіологічний розчин (0,9% NaCl) або 0,01 М PBS (рН 7,4). До тест набору входять такі реагенти: 1) Сульфатний розчин, 2) Лужний розчин, 3) Хромогенний агент А, 4) Хромогенний агент В, 5) Кислотний розчин, 6) Стандарт нітриту натрію.

Примітка. Усі реагенти зберігати згідно вимог та рекомендацій виробника. Гемоліз і помутніння сироватки впливають на результати дослідження. Зразки сироватки можна зберігати упродовж 3 днів при температурі 4°C або місяця при -20°C . Надосад для хромогенної реакції не повинен містити осаду. Усі ці чинники впливають на результат дослідження.

Штативи, мікропробірки-епіндорфи (1,5 мл, 2 мл та 5 мл), дозатори, наконечники, центрифуга, фарфорові ступки, холодоагенти, аналітичні ваги, вортекс, рН-метр, спектрофотометр, кювети.

Хід роботи:

1. Приготувати реагенти до вимірювань згідно рекомендацій виробника.

1.1. Якщо Реагент 3 – Хромогенний агент А випав у осад, його перед використанням слід повністю розчинити на водяній бані при температурі 60°C .

1.2. Приготувати робочий розчин Реагенту 4 – Хромогенний агент В – повністю розчинити флакон з Реагентом 4 у 37,5 мл бідистильованої води.

Приготовлений розчин Реагенту 4 можна зберігати при температурі 4 °С упродовж 2 місяців у темному місці. Рекомендується готувати необхідну кількість і концентрацію 1,5 мг/мл.

Потемніння забарвлення реактивів свідчить про їх непридатність у дослідженнях!

1.3. Приготувати суміш хромогенних реактивів – повністю змішати Реагент 3 (Хромогенний агент А) і приготовлений розчин Реагенту 4 (Хромогенний агент В) і Реагент 5 (Кислотний розчин) у співвідношенні 3:3:2. У дослідженнях використовують свіжоприготовлений розчин!

1.4. Приготування 2 ммоль/л стандартного розчину (Реагент 6 - Стандарт нітриту натрію) – повністю розчинити флакон з Реагентом 6 у 2 мл дистильованої води.

У дослідженнях використовують свіжоприготовлений розчин!

1.5. Приготування 40 мкмоль/л стандартного розчину нітриту натрію – розвести 2 ммоль/л стандартний розчин (див. п.1.4) з дистильованою водою у співвідношенні 1:49 і повністю перемішати до повного розчинення.

У дослідженнях використовують свіжоприготовлений розчин!

2. Підготувати дослідний зразок.

2.1. Для цього потрібно 0,02 – 1 г свіжої тканини промити в охолоджену при температурі 2-8 °С 0,01 М фосфатному буфері (рН 7,4).

2.2. Тканину промокнути фільтрувальним папером для видалення вологи і зважити та подрібнити на маленькі шматочки.

2.3. Тканину гомогенізувати упродовж 6-8 хв в охолоджену при температурі 2-8 °С фосфатному буфері у співвідношенні розчин (мл) і наважка тканини (мг) 9:1.

Другий спосіб гомогенізації – подрібнену тканину у ступці розтерти з рідким азотом, а потім додати охолоджений фосфатний буфер у співвідношенні розчин (мл) і наважка тканини (мг) 9:1.

Третій спосіб гомогенізації – тканину і фосфатний буфер помістити у спеціальну пробірку і на крижаній бані обробити за допомогою гомогенізатора (60 Гц, 90с). Час гомогенізації може збільшуватися в залежності від типу тканин.

2.4. Гомогенат тканини відцентрифугувати при 10 тис. g упродовж 10 хв при температурі 4 °С.

2.5. Надосад до реакції зберігати на льоду.

2.6. У надосаді визначити концентрацію білка.

3. Розведення дослідного зразка.

Рекомендується взяти 2-3 зразки з очікуваною великою різницею та провести попередній дослід і розвести відповідно до діапазону виявлення 0,97-700 мкмоль/л. Рекомендований коефіцієнт розведення для різних зразків – 1, тобто 1:1. Для розведення дослідного зразку використовують бідистильовану воду, або фізіологічний розчин (0,9% NaCl) або 0,01 М PBS (рН 7,4).

4. Протокол аналізу.

Проведення дослідів відбувається за кімнатної температури 25-30 °С.

4.1. До контрольної проби у епіндорф об'ємом 1,5 мл внести a^* ... мл бідистильованої води.

4.2. До стандартної проби у епіндорф об'ємом 1,5 мл внести a^* ... мл 40 мкмоль/л стандартного розчину нітриту натрію.

4.3. До дослідної проби у епіндорф об'ємом 1,5 мл внести a^* ... мл надосаду зразку.

4.4. До кожної проби додати по 1,6 мл Реагенту 1 (Сульфатний розчин) і перемішати на вортексі.

4.5. До кожної проби додати по 0,8 мл Реагенту 2 (Лужний розчин) і перемішати на вортексі.

	Контроль	Стандарт	Дослід
Бідистильована вода, мл	a^*	-	-
40 мкмоль/л нітрит натрію, мл	-	a^*	-
Зразок, мл	-	-	a^*
Реагент 1, мл	1,6	1,6	1,6
Реагент 2, мл	0,8	0,8	0,8

Примітка: a^* = об'єму зразка = об'єму стандарту! Для тканин a^* = 0,1 – 0,3 мл.

4.6. Проби витримати упродовж 15 хв за кімнатної температури 25-30° С.

4.7. Проби відцентрифугувати при 3100 g упродовж 10 хв.

Якщо осад погано осів і у надосадовій рідині присутні домішки, то надосад слід перенести у чисті епіндорфи об'ємом 1,5 мл і відцентрифугувати знову.

4.8. Відібрати від кожної проби відповідно по 1,6 мл надосаду та перенести у відповідні епіндорфи (контроль, стандарт, дослід) для хромогенної реакції.

4.9. До кожної проби додати по 0,8 мл хромогенного реагенту (див. п.1.3.).

4.10. Вміст епіндорфів перемішати на вортексі.

4.11. Проби витримати упродовж 20 хв при кімнатній температурі.

4.12. Прописати базову лінію на спектрофотометрі по бідистильованій воді і виміряти оптичне поглинання проб при довжині хвилі 550 нм у кюветі об'ємом 1 см³.

	Контроль	Стандарт	Дослід
Надосад, мл	1,6	1,6	1,6
Хромогенний реагент, мл	0,8	0,8	0,8
E1, 550 нм			
E2, 550 нм			
E3, 550 нм			

5. Вміст NO у тканині розрахувати за формулою:

$$NO \left(\frac{\text{мкмоль}}{\text{л}} \right) = \frac{E_{\text{дослід}} - E_{\text{контроль}}}{E_{\text{стандарт}} - E_{\text{контроль}}} \cdot c \cdot f \cdot C_{\text{білка}}, \text{ де}$$

E – оптичне поглинання при довжині 550 нм, відповідних проб (контроль, стандарт, дослід),

c – концентрація нітриту натрію, 40 мкмоль/л,

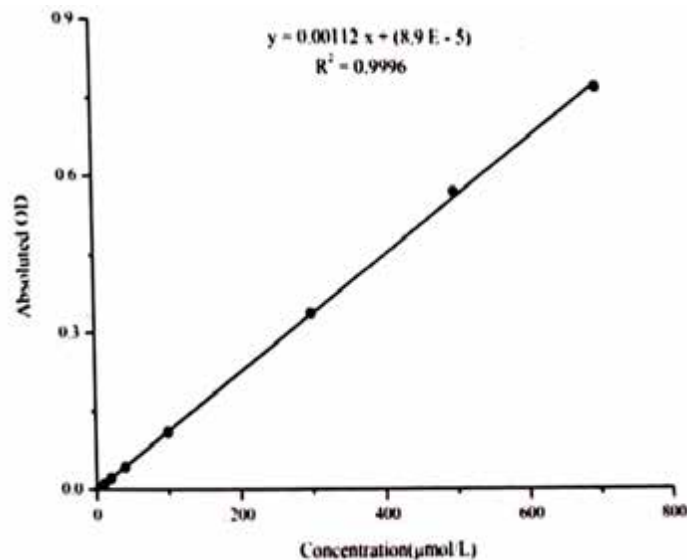
f – коефіцієнт розведення зразка,

$C_{\text{білка}}$ – концентрація зразка у пробі, г білка/л.

Примітка! Чутливість методу знаходиться у діапазоні 0,97-700 мкмоль/л.

6. Стандартна крива для визначення концентрації NO.

Концентрація, мкмоль/л	0	10	20	40	100	300	500	700
Середнє ОП	0,010	0,021	0,032	0,054	0,120	0,348	0,580	0,784
Абсолютне ОП	0	0,011	0,022	0,044	0,110	0,338	0,570	0,774



7. Вміст білка у супернатанті визначити за реакцією Бредфорд.

8. Обрахувати і статистично обробити отримані результати досліджень.

9. Сформулювати і записати висновки:

Висновки:

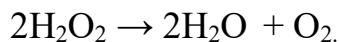
Запитання і завдання для самоконтролю?

1. Методи, які широко використовуються для визначення концентрації білка.
2. У яких тканинах і біологічних рідинах можна визначати вміст NO?
3. Для чого використовують реактив Грісса?

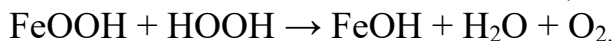
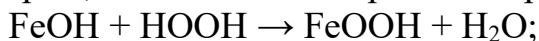
Лабораторна робота № 26

Визначення активності каталази у проростках гороху

Каталаза (К.Ф. 1.11.1.6) – це Fe-порфіриновий фермент, який каталізує перетворення пероксиду водню до води з виділенням молекулярного кисню:



У ферментативному каталізі приймає участь дві молекули пероксиду водню, де одна слугує донором, а інша – акцептором електронів:



Каталазу виявлено в усіх аеробів і у деяких факультативних анаеробів. Рослинні тканини характеризуються високою активністю та вмістом каталази. Загальновідомим є те, що пероксид водню виявляє цитотоксичну дію на клітини, а в його знешкодженні/нейтралізації важливу роль відіграє каталаза.

Активність каталази у проростках гороху оцінювали спектрофотометричним методом модифікованим згідно авторів Королук М.А та інші. Даний метод який базується на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий комплекс жовтого кольору інтенсивність поглинання якого вимірюють при довжині хвилі 410 нм на спектрофотометрі.

Мета роботи: Оцінити активність каталази у проростках гороху спектрофотометричним методом.

Предмети і матеріали. 0,15 М фосфатний буфер (рН 7,8) (896 мг Na_2HPO_4 і 50 мг KH_2PO_4 розчинити у 100 мл дист. H_2O), 4% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ (4 г на 100 мл дист. H_2O), 0,03% пероксид водню (30 мкл 50% H_2O_2 і 49,97 мл дист. H_2O). Штативи, хімічні пробірки об'ємом 10 мл, дозатори, наконечники, центрифуга, фарфорові ступки, холодоагенти, кювети, аналітичні ваги, рН-метр, спектрофотометр.

Хід роботи:

1. Приготувати робочі розчини буферів та реактивів.
2. Наважку рослинного матеріалу (250 мг проростків гороху) розтерти у охолодженій фарфоровій ступці на холодоагенті з 4 мл охолодженого 0,15 М фосфатного буферу (рН 7,8).
3. Отриманий гомогенат перенести у центрифужну пробірку, змиваючи залишки рослинного матеріалу невеликими порціями фосфатного буфера (по 100 мкл 5 разів). Загальний об'єм проби має становити 5 мл.
4. Далі проби центрифугують упродовж 20 хв (15 тис g) при температурі 4° С).
5. Для визначення активності ферменту використовують надосад, який може зберігатися у холодильнику при температурі 4° С не більше 2 год.
6. До дослідної проби внести 1 мл пероксиду водню та 0,1 мл надосадової рідини.
7. Контрольна проба замість надосаду містить 0,1 мл дист. води.
8. Холоста проба замість пероксиду водню містить 1 мл дист. води.
9. Вміст пробірок проінкубувати на водяній бані при температурі 37° С упродовж 10 хв.
10. Реакцію зупиняють внесенням до пробірок по 1 мл молібдату амонію.

11. Вміст пробірок відцентрифугувати упродовж 10 хв (3 тис. об/хв) за кімнатної температури 22-24° С.

12. Інтенсивність забарвлення надосаду виміряти на спектрофотометрі при довжині хвилі 410 нм. Дані занести у таблицю 6.3.

Таблиця 6.3.

Вміст досліджуваних проб, послідовність внесення реактивів і умови проведення реакції визначення активності пероксидази у проростках гороху

№ проби	0,03% H ₂ O ₂	Дист. H ₂ O	Надосад	T, 37° С	Молибдат амонію	Центриф. 3 тис об/хв	E	AK
	1 мл	0,1 мл	0,1 мл	10 хв	1 мл	10 хв	410 нм	мкат/мг
X1	-	-	+	+	+	+		
X2	-	-	+	+	+	+		
K1	+	+	-	+	+	+		
K2	+	+	-	+	+	+		
Д1	+	-	+	+	+	+		
Д2	+	-	+	+	+	+		

13. Активність каталази розрахувати за формулою:

$$AK = (A_{хол} - A_{досл}) \times V \times t \times K/m, \text{ де}$$

AK – активність каталази (мкат/мг),

A_{хол} – екстинція холостої проби,

A_{досл} – екстинція дослідної проби,

V – обсяг внесеної проби (0,1 мл),

t – термін інкубації (600 с),

K – коефіцієнт мілімолярної екстинції пероксиду водню ($22,2 \times 10^3 \text{ мМ}^{-1} \times \text{см}^{-1}$),

m – наважка рослинного матеріалу (250 мг).

Примітка. 1 катал (кат) – каталітична активність, яка збільшує швидкість реакції на 1 моль/сек. Перерахунок: 1 мкмоль/хв = 1 од.кат = 16,67 нкат або ммоль/хв = 0,01667 мкат.

14. Вміст білка у супернатанті визначити за реакцією Бредфорд.

15. Обрахувати і статистично обробити отримані результати досліджень.

16. Сформулювати і записати висновки:

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю?

1. Які відомо методи визначення активності пероксидази?

2. Що є донором і акцептором електронів у каталітичній реакції за участі каталази?

3. Які існують загальноприйняті одиниці виміру активності ензимів?

Визначення активності аскорбатпероксидази у проростках гороху

Активність аскорбатпероксидази (КФ 1.11.1.11) визначали за окисненням аскорбінової кислоти при зниженні світлопоглинання при довжині хвилі 290 нм. Метод модифікований згідно авторів Nakano and Asada та базується на здатності хлоропластів поглинати перекис водню за допомогою пероксидази, яка використовує фотовідновник як донор електронів, а донором електронів для поглинання перекису водню у хлоропластах є L-аскорбат, який регенерується дегідроаскорбат (DHA) системою: фотосистема I → ферредоксин → NADP → глутатіон.

Мета роботи: Оцінити активність аскорбатпероксидази у проростках гороху за окисненням аскорбату у динаміці при оптичному поглинання за довжини світла 290 нм.

Предмети і матеріали. 50 мМ фосфатний буфер (рН 7,0) (299 мг Na_2HPO_4 і 16,7 мг KH_2PO_4 на 100 мл дист. H_2O), аскорбінова кислота (22 мг на 50 мл дист. H_2O), 1 мМ перекис водню (11 мкл 30% H_2O_2 на 100 мл H_2O), 0,5 мМ Na-EDTA (трилон Б) (7,31 мг на 50 мл дист. H_2O). Штативи, хімічні пробірки об'ємом 10 мл, дозатори, наконечники, центрифуга, фарфорові ступки, холодоагенти, кювети, секундомір, аналітичні ваги, рН-метр, спектрофотометр.

Хід роботи:

1. Приготувати робочі розчини буферів та реактивів.
2. Наважку рослинного матеріалу (250 мг проростків гороху) розтерти у охолодженій фарфоровій ступці на холодоагенті з 1,5-2 мл охолодженого 50 мМ фосфатного буферу (рН 7,0).
3. Отриманий гомогенат перенести у центрифужну пробірку, змиваючи залишки рослинного матеріалу невеликими порціями фосфатного буфера (по 100 мкл 5 разів). Загальний об'єм проби має становити 5 мл.
4. Далі проби центрифугують упродовж 20 хв (15 тис g) при температурі 4° С).
5. Для визначення активності ферменту використовують надосад, який може зберігатися у холодильнику не більше 2 год.
6. Дослідна проба містить суміш реагентів: 1,5 мл 50 мМ фосфатного буфера, 0,5 мл розчину аскорбінової кислоти, 0,5 мл розчину 1 мМ перекису водню, 0,1 мл розчину 0,5 мМ розчину Na-EDTA.
7. Контрольна проба містить суміш реагентів: 1,5 мл 50 мМ фосфатного буфера, 1 мл дистильованої води, 0,1 мл розчину 0,5 мМ розчину Na-EDTA.
8. Реакцію стартують внесенням 50 мкл охолодженого надосаду до кювети, в яку перенесено попередню суміш реагентів (відповідно проб контрольна або дослідна). Одержані дані занести у таблицю 6.4.

Таблиця 6.4.

Реакційна суміш дослідних проб для визначення активності аскорбатпероксидази у проростках гороху

№ проби	50 мкМ ФБ	АК	3,3% H ₂ O ₂	0,5 мМ Na-EDTA	надосад	Дист. H ₂ O
	1,5 мл	0,5 мл	0,5 мл	0,1 мл	0,05 мл	1 мл
X	+	+	+	+	-	-
K1	+	-	-	+	+	+
K2	+	-	-	+	+	+
K3	+	-	-	+	+	+
Д1	+	+	+	+	+	-
Д2	+	+	+	+	+	-
Д3	+	+	+	+	+	-

8. Суміш реагентів та внесеного надосаду швидко та інтенсивно струсити.

9. Одразу виміряти оптичне поглинання досліджуваної проби на спектрофотометрі при довжині хвилі 290 нм упродовж 2-3 хв через 10 с. Одержані дані занести у таблицю 6.5.

Таблиця 6.5.

Показники вимірювань на спектрофотометрі оптичного поглинання досліджуваних проб на спектрофотометрі при довжині хвилі 290 нм

№ проби	Термін, хв																			
	0	0:10	0:20	0:30	0:40	0:50	1:00	1:10	1:20	1:30	1:40	1:50	2:00	2:10	2:20	2:30	2:40	2:50	3:00	
X																				
K1																				
K2																				
K3																				
Д1																				
Д2																				

10. Отримані результати вимірів використовують для розрахунку швидкості зниження максимуму поглинання у часовому проміжку, що відповідає лінійній криві при 290 нм ($tg = \Delta D/t$).

11. Для переходу від тригонометричної функції до абсолютних одиниць активності пероксидази використовують наступну формулу:

$$APox = (tg_e - tg_k) \times V_p / (2,8 \times C_p), \text{ де}$$

$APox$ – пероксидаза, мкМ аскорбату на мг білка за хв;

tg_e – $\Delta D/t$ для дослідної проби;

tg_k – $\Delta D/t$ для контрольної проби;

V_p – об'єм реакційного середовища у пробі (2,65 мл)

2,8 – коефіцієнт екстинції аскорбату, мкМ/см;

C_p – вміст білка у пробі, мг.

12. Вміст білка у супернатанті визначити за реакцією Бредфорд.

13. Обрахувати і статистично обробити отримані результати досліджень.

14. Сформулювати і записати висновки:

Висновки:

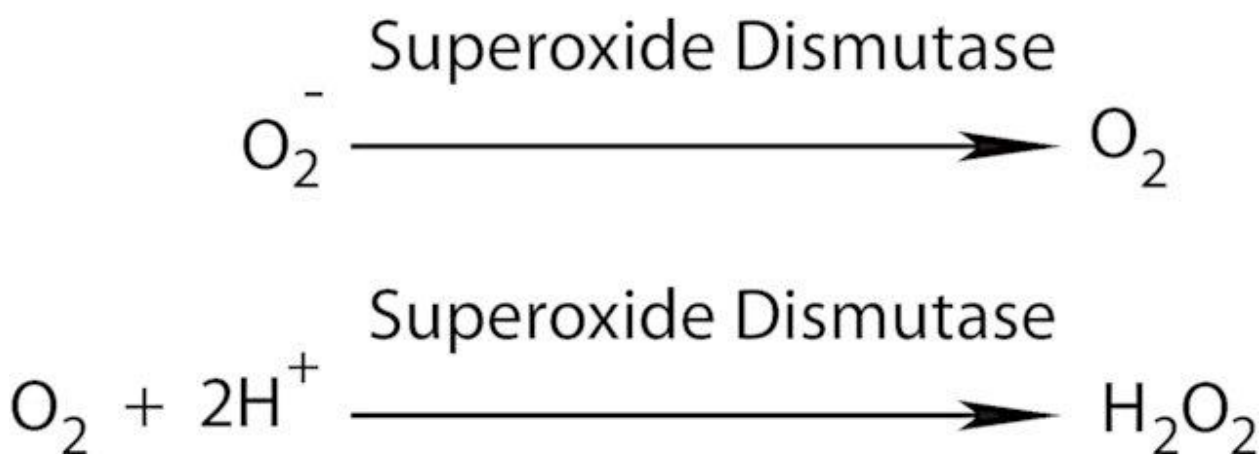
Запитання і завдання для самоконтролю?

1. Які основні відмінності між цитозольною та хлоропластною формами аскорбатпероксидази?
2. Які методи використовують для визначення активності аскорбатпероксидази?
3. Що каталізує аскорбатпероксидаза?

Лабораторна робота № 28

Визначення активності супероксиддисмутази у проростках гороху

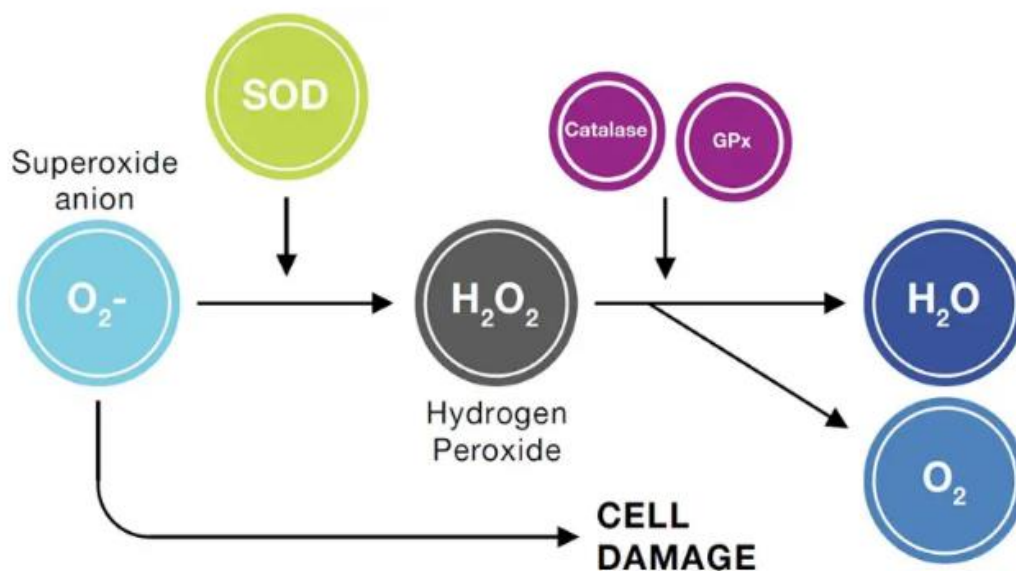
Супероксиддисмутаза (СОД) (К.Ф. 1.15.1.1) є одним з базових ферментів антиоксидантного захисту у клітині і каталізує перетворення супероксидних аніонів до пероксиду і молекулярного кисню:



<https://www.scientificlabs.co.uk/product/S9697-15KU>

СОД локалізується в усіх внутрішньоклітинних компартментах рослин, зокрема хлоропластах, мітохондріях, гліюксисомах, пероксисомах, де інтенсивно протікають окисно-відновні процеси.

Активність СОД визначали спектрофотометричним методом за швидкістю окиснення НАДН у присутності НСТ і ФМС. Метод базується на здатності СОД конкурувати з НСТ за супероксидні аніон радикали, які утворилися при взаємодії відновленої форми НАД та ФМС. У результаті цієї реакції НСТ відновлюється з утворенням гідрозинтетразолію.



<https://venus-clinic.com.ua/en/sod.html>

Мета роботи: Визначити активність супероксиддисмутази у проростках гороху спектрофотометричним методом.

Предмети і матеріали. 0,15 М фосфатний буфер (рН 7,8) (896 мг Na₂HPO₄ і 50 мг KH₂PO₄ розчинити у 100 мл дист. H₂O), Реагент 1 (57 мкМ НСТ, 16 мкМ ФМС на ФБ з ЕДТА, рН 7,8), Реагент 2 (98,5 мкМ НАД·Н на Трис-ЕДТА буфері, рН=8,0).

Примітка! НСТ є токсичною сполукою, яка погано розчиняється!

Штативи, хімічні пробірки об'ємом 10 мл, дозатори, наконечники, центрифуга, фарфорові ступки, холодоагенти, кювети, аналітичні ваги, рН-метр, вортекс, спектрофотометр, кювети.

Хід роботи:

1. Приготувати робочі розчини буферів та реактивів.
2. Наважку свіжого рослинного матеріалу (150 мг проростків гороху) розтерти в охолодженій фарфоровій ступці на холодоагенті з 1,5-2 мл 0,15 М ФБ (рН 7,8).
3. Отриманий гомогенат перенести у центрифужну пробірку, змиваючи залишки рослинного матеріалу невеликими порціями фосфатного буфера (по 100 мкл декілька разів). Загальний об'єм проби має становити 2 мл.
4. Далі проби центрифугують упродовж 10 хв (15 тис g) при температурі 4 °С).
5. Для визначення активності ферменту використовують надосад, який може зберігатися у холодильнику не більше 2 год.
6. У дослідну пробу внести 50 мкл надосаду, у контрольну – 50 мкл 0,15 М ФБ.
7. До кожної проби додати по 1 мл Реагенту 1, вміст мікропробірок пробірок швидко перемішати на вортексі.
8. Перенести пробу в кювету і одразу виміряти на спектрофотометрі оптичне поглинання досліджуваних проб при довжині хвилі 540 нм.

9. Пробу з кювети перелити у відповідну мікропробірку.
10. До кожної проби додати по 50 мкл Реагенту 2 і інкубували упродовж 10 хв за кімнатної температури 22-24⁰ С.
11. Через 10 хв повторно вимірювали екстинкцію проб при 540 нм.
12. Відсоток пригнічення ступеня відновлення НСТ у пробі розраховували за формулою:

$$\frac{(E_1 - E_2) : E_2 \cdot 100}{\text{відсоток блокування реакції відновлення НСТ,}}, \text{ де}$$

- E_1 – оптичне поглинання проб до внесення реагенту 2,
 E_2 – оптичне поглинання проб після внесення реагенту 2.

13. Вміст білка у супернатанті визначити за реакцією Бредфорд.
14. Активність ферменту визначити за калібрувальною кривою та виразити в умовних одиницях за хв/мг білка.
15. Обрахувати і статистично обробити отримані результати досліджень.
16. Сформулювати і записати висновки.

Висновки:

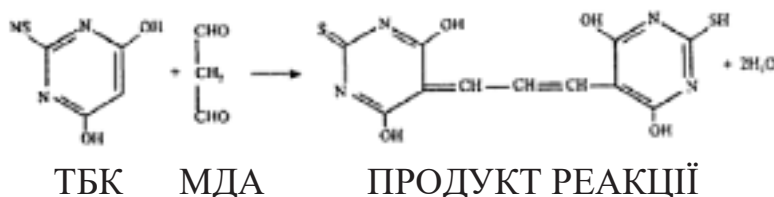
Запитання і завдання для самоконтролю?

1. Які відомо молекулярні форми СОД?
2. Про що може свідчити зниження активації СОД?

Лабораторна робота № 29

Визначення вмісту ТБК-активних продуктів у проростках гороху

Маркером оксидативного стресу на рівні плазматичних мембран (пошкодження поліненасичених жирних кислот) є ТБК-активні продукти, які утворюються внаслідок пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) спричиненого надмірним утворенням і накопиченням АФК. Процеси ПОЛ у клітинах оцінюють за вмістом малонового диальдегіду (МДА), який є високореактивною низькомолекулярною гідрофільною сполукою ($\text{CH}_2(\text{CHO})_2$).



У нормі у клітинах рослин МДА присутній у низьких концентраціях, однак за умови активації вільно радикальних реакцій його вміст значно підвищується. За накопиченням продуктів ПОЛ оцінюють резистентність рослин до дії стресорів біотичної та абіотичної природи.

В основі методу лежить реакція МДА з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) у кислому середовищі за високої температури, в результаті чого утворюється забарвлений комплекс з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм.

Мета роботи: Визначити вміст ТБК-активних продуктів у проростках гороху за допомогою спектрофотометричного методу.

Предмети і матеріали. 25 мМ трис-НСІ-буфер (рН 7,4), який містив 175 мМ КСІ, 20% розчин трихлороцтової кислоти (ТХО) у кінцевій концентрації 5%, 0,8% водний розчин ТБК. Штативи, хімічні центрифужні пробірки об'ємом 10 мл, дозатори, наконечники, центрифуга, гомогенізатор, фарфорові ступки, кювети, аналітичні ваги, рН-метр, вортекс, водяна баня, спектрофотометр, кювети.

Хід роботи

1. Приготувати робочі розчини буферів та реактивів.

1.1. 25 мМ трис-НСІ-буфер (рН 7,4) який містив 175 мМ КСІ – наважки 302 мг трис-НСІ-буфер і 1,04 г КСІ розвести у 100 мл дистильованої води, підвести рН буферу до значення 7,4.

1.2. Концентровану трихлороцтову кислоту (ТХО) потрібно розвести у 5 разів, тобто до 20 мл (100% ТХО) додати 80 мл дистильованої води.

1.3. 0,8% водний розчин ТБК – наважку 800 мг (або 200 мг) ТБК розчинити у 100 мл (або 25 мл) дистильованої води.

2. Наважку свіжого рослинного матеріалу (200 мг проростків гороху) подрібнити ножицями і розтерти у фарфоровій ступці з 2 мл 0,1 М трис-НСІ-буфер (рН 7,4). Вміст білка у пробі має становити 2-4 мг.

3. Отриманий гомогенат перенести у центрифужну пробірку, змиваючи залишки рослинного матеріалу невеликими порціями фосфатного буфера (по 100 мкл декілька разів). Загальний об'єм проби має становити 3 мл.

4. Дослідна проба містить 3 мл гомогенату, а контрольна у – 3 мл 0,1 М трис-НСІ-буфер (рН 7,4) або дистильованої води.

5. До кожної проби додати по 1 мл ТХУ і вміст пробірок перемішати.

6. Проби відцентрифугувати упродовж 10 хв при 3000 об/хв.

8. Надосад обережно відібрати, приблизний об'єм 3 мл, і перенести у чисті пробірки.

9. До кожної проби (надосаду) додати по 1,5 мл ТБК і вміст пробірок перемішати.

10. Пробірки закрити резиновими пробками і прокип'ятити упродовж 10 хв на кип'ячій водяній бані при температурі 100 °С.

11. Вміст пробірок охолодити за кімнатної температури.

12. Виміряти оптичне поглинання дослідних проб на спектрофотометрі при довжині хвилі 532 нм.

10. Розрахувати концентрацію МДА за формулою:

$$C = \frac{D \times V}{\varepsilon \times l \times 1000 \times P}$$

, де

C – концентрація МДА, нМоль/г маси сирової речовини,
 D – оптичне поглинання при 532 нм,
 V – об'єм реакційної суміші, мл, (3 мл),
 ε – коефіцієнт молярної екстинкції, $1,56 \times 10^5 \text{ л} \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{хМ}^{-1}$,
 l – товщина шару розчину в кюветі, 1 см,
 P – наважка рослинного матеріалу, г, (0,2 г),
 1000 – перерахунок на мл на л.

Реакційна суміш дослідних проб та протокол проведення дослідів для визначення вмісту МДА у проростках гороху

№ проби	Трис-НСІ буфер	Білок, гомогенат	ТХО кислота	Відцентрифугувати	Надосад	ТБК	Водяна баня	Охолодити	E
	мл	мл	мл	10 хв при 3 тис.об/хв	мл	мл	10 хв 100 °С	кімн t°С	532 нм
К1	1,5	-	0,5	+	1,5	0,75	+	+	
К2	1,5	-	0,5	+	1,5	0,75	+	+	
К3	1,5	-	0,5	+	1,5	0,75	+	+	
Д1	1,25	0,25	0,5	+	1,5	0,75	+	+	
Д2	1,25	0,25	0,5	+	1,5	0,75	+	+	
Д3	1,25	0,25	0,5	+	1,5	0,75	+	+	

11. Вміст білка у супернатанті визначити за реакцією Бредфорд.
12. Обрахувати і статистично обробити отримані результати досліджень.
13. Сформулювати і записати висновки.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю?

1. Як АФК впливають на структурну цілісність клітинних мембран?
2. Які використовують маркери для оцінки пошкодження плазматичних мембран?
3. Структурна організація і склад рослинних клітинних стінок.

Питання для обговорення та самоперевірки до Розділу 6:

1. Індуктори окисного стресу.
2. Роль АФК у фізіологічних процесах стресостійкості рослин.
3. Внутрішньоклітинна локалізація АФК.
4. Роль дихального ланцюга мітохондрій у продукуванні АФК.
5. Фізіологічна роль NO у рослин.
6. Шляхи синтезу та нейтралізації NO у клітинах.
7. Що є джерелом продукування та механізми утворення пероксиду водню?
8. Позитивні і негативні ефекти пероксиду водню.
9. Нейтралізацію яких АФК каталізує аскорбатпероксидаза?
10. Механізм дії СОД.
11. Молекулярна будова СОД.
12. Яку роль відіграють АФК у пошкодженні клітинних мембран у рослин?
13. Особливості складу і структурної будови плазматичних мембран у рослин.
14. Роль поліненасичених жирних кислоти у механізмах стресостійкості рослин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Arthur J.R. The glutathione peroxidases // Cell Mol Life Sci. – 2000. – Vol. 57(13-14). – P. 825-1835.
2. 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.
3. Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "Auxin". Encyclopedia Britannica, 2 Nov. 2021, <https://www.britannica.com/science/auxin>. Accessed 11 January 2024
4. Davis K.L., Martin E., Turko I.V., Murad F. Novel effects of nitric oxide // Annu Rev Pharmacol Toxicol. – 2001. - Vol. 41, Issue 1. - P. 203-236.
5. Dickison W. C. Integrative Plant Anatomy /W. C. Dickison. – 2000. – 358p.
6. Eruslanov E., Kusmartsev S. Identification of ROS using oxidized DCFDA and flow-cytometry // Meth Mol Biol. – 2010. – V. 594. – P. 57-72.
7. Kochhar S.L., & Gujral S.K. Plant physiology: theory and applications (2nd edition.). Cambridge University Press. 2020.
8. Krasnovsky A.A. Singlet molecular oxygen in photobiochemical systems: IR phosphorescence studies // Membr. Cell Biol. - 1998. - Vol. 12, № 5. - P. 665-660.
9. LeBel C.P., Ischiropoulos H., Bondy S.C. Evaluation of the probe 2',7'-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress // Chem Res Toxicol. – 1992. - Vol. 5. – P. 227-231.
10. Li S. M., Zheng H. X., Zhang X. S., Sui N. Cytokinins as central regulators during plant growth and stress response. Plant cell reports. 2021. 40(2). pp. 271–282. <https://doi.org/10.1007/s00299-020-02612-1>
11. Nakano Yo., Asada K.. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts // Plant and Cell Physiology. - 1981. – Vol. 22, Issue 5. - P. 867–880, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
12. Mittler R. ROS Are Good // Trends in Plant Science – 2017. - Vol. 22, No. 1. – P. 11-19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
13. Mukherjee A., Gaurav A. K., Singh S., Yadav S., Bhowmick S., Abeysinghe S., Verma J. P. The bioactive potential of phytohormones: A review. Biotechnology reports. 2022. Vol. 35. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00748>
14. Pandey S. N., Sinha B. K. A Text Book of Plant Physiology. Vikas Publishing House Pvt. Ltd., 2015. 514 p.
15. Pessarakli M. Handbook of Plant and Crop Physiology. Tucson: CRC Press, 2021. 1200 p.
16. Tran L.P., Pal S. Phytohormones: A Window to Metabolism, Signaling and Biotechnological Applications. 2014. Springer: New York.
17. Tudzynski B., Hedden P., Carrera E., Gaskin P. The P450-4 gene of Gibberella fujikuroi encodes ent-kaurene oxidase in the gibberellin biosynthesis pathway. Applied and environmental microbiology. 2001. 67(8). pp. 3514–3522. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.8.3514-3522.2001>
18. Sezgina M., Kahyab M. Phytohormones. Journal of science and technology. 2018. 8(1) pp. 35–39.

19. Singh A.K., Dhanapal S. & Yadav B.S. The dynamic responses of plant physiology and metabolism during environmental stress progression. *Mol. Biol. Rep.* 2020. Vol. 47, P. 1459–1470.
20. Sun J., Zhang X., Broderick M., Fein H. Measurement of Nitric Oxide Production in Biological Systems by Using Griess Reaction Assay // *Sensor.* – 2003. - Vol. 3, Issue 8. - P. 276-284.
21. Stamler J.S. Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide // *Cell.* - 1994. - Vol. 78. – P. 931-936.
22. Vishwakarma A., Wany A., Pandey S., Bulle M., Kumari A., Kishorekumar R., Igamberdiev A.U., Mur L. A.J., Gupta K. J. Current approaches to measure nitric oxide in plants // *Journal of Experimental Botany.* – 2019. - Vol. 70, No. – P. 4333–4343. [doi:10.1093/jxb/erz242](https://doi.org/10.1093/jxb/erz242)
23. Zhang Q., Gong M., Xu X., Li H., Deng W. Roles of Auxin in the Growth, Development, and Stress Tolerance of Horticultural Plants. *Cells.* 2022. 11(17). 2761. <https://doi.org/10.3390/cells11172761>
24. Анатомія та фізіологія рослин : лабораторний практикум / уклад. : О. М. Ковальов, С. І. Тарасюк, А. В. Дrajнікова. – К. : НАУ, 2016. – 52 с.
25. Антоняк Г.Л., Панас Н.Є., Мамчур З.І., Жиліщич Ю.В. Біохімічна екологія. Навчальний посібник. Львів: ЛНУ ім. Івана Франка (Серія «Біологічні студії»). – 2019. – 425 с
26. Беленічев І.Ф., Левицький Е.Л., Губський Ю.І., Коваленко С.І., Марченко О.М. Антиоксидантна система захисту організму // *Сучасні проблеми токсикології.* – 2002. - № 3. – С. 25 – 30.
27. Біохімія плодів та овочів : навч. посіб. / В. В. Євлаш [та ін.] ; [Тавр. держ. агротехнол. ун-т]. Мелітополь : Люкс, 2019. 206 с.
28. Білокін І.П. Ріст і розвиток рослин. – Вища школа. К.: 1975. – 431 с.
29. Біохімія. Практикум : навч. посіб. / [Л. І. Остапчук та ін.] ; Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. Київ : Київський університет, 2018. 295 с
30. 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.
31. Волін М.С., Девідсон К.А., Камінський П.М. Механізми передачі сигналу оксидант - оксид азота у судинистій тканині // *Біохімія.* - 1998. - Т. 63, № 7. - С. 958-965.
32. Гормональна система рослин за дії важких металів /І.В. Косаківська, В.А. Васюк, Л.В. Войтенко, М.М. Щербатюк. – Київ: Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного, 2022. – 176 с.
33. Гринюк П, Прилуцька СВ, Гребіник СМ, Михайлова АГ, Франкевич ДВ, Матишевська ОП. Показники активності антиоксидантної системи у нормальних та трансформованих клітинах // *Досягнення Біол Мед.* – 2011. – Т. 2. – Р. 31-35.
34. Заворотна Т.А., Руденко С.С., Панчук І.І. Вплив фунгіцидів на активність пероксидаз у *ARABIDOPSIS THALIANA* // *Біологічні системи.* – 2018. - Т. 10. Вип. 2. – Р. 119-124. <https://doi.org/10.31861/biosystems2018.02.119>

35. Матишевська ОП, Прилуцька СВ, Бурлака АП, Сидорик ЄП, Ящук ВМ, Голуб ОА, Прилуцький ЮІ. Генерація радикальних форм кисню у водних розчинах S_{60} під дією опромінення // Фізика Живого. – 2004. – Т. 12(2). – С. 78-82.
36. Москаленко М. П. Фізіологія рослин : навчальний посібник: у 2-х частинах. Ч. 2. Суми: ФОП Цьома С.П., 2020. 93 с.
37. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин: підручник. Київ: «Либідь», 2005. 808 с.
38. Панюта О.О., Белава В.Н., Таран Н.Ю. Рання діагностика резистентності рослин до фітопатогенів за станом антиоксидантної системи (Методичні рекомендації) – К.: Авега, - 2019. - 48 с.
39. Петрова Г. В., Капралов А. А., Донченко Г. В. Вітамін Е і апоптоз // Український біохімічний журнал. – 2003. – Т. 75, № 6. - С. 25 – 34.
40. Сербін, А. Г. Фармацевтична ботаніка : підруч. / А. Г. Сербін, Л. М. Сіра, Т. О. Слободянюк; за ред. Л. М. Сірої. – Вінниця : НОВА КНИГА, 2015. – 486 с.
41. Скляр В. Г. Екологічна фізіологія рослин : підручник / Вікторія Григорівна Скляр ; за заг. ред. Ю. А. Злобін. – Суми : Університетська книга, 2018. – 271 с.
42. Степанов С.С., Мокросноп В.М. Метаболічні процеси та цінні речовини водоростей. – Київ: Наукова Думка, 2021. – 245 с.
43. Терек О. І. Ріст і розвиток рослин: навч. посібник / О. І. Терек, О. І. Пацула. – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2011. – 328 с.
44. Чеварі С., Чаба І., Секей Й. Роль супероксиддисмутази в оксидних процесах клітини і метод визначення її у біологічних матеріалах // Лабораторна справа. – 1985. - Т. 11. – С. 678-681.
45. Чечуй О. Ф. Метаболізм мікротілець у рослинах: [навч.- метод. вид.] / О. Ф. Чечуй, Каліман П. А., Жмурко В. В. –Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2016. – 97 с.
46. Фізіологічні та біохімічні основи підвищення врожаю і якості винограду : монографія / Каменева Наталя. Харків : Факт, 2021. 193 с.
47. Фізіологія рослин : навч. посіб. / В. П. Бессонова, С. О. Яковлева-Носарь. Дніпропетровськ : Свідлер А. Л., 2014. 596 с.
48. Фізіологія та біохімія рослин : малий практикум : навч.-метод. посіб. / [О. О. Авксентьева та ін.] ; Харків. нац. ун-т ім. В. Н. Каразіна. Харків : ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2018. 151 с.
49. Фізіологія та біохімія рослин. Конспекти лекцій. Тестові запитання та завдання : навч. посіб. / І. І. Панчук, А. Г. Должицька ; Чернівець. нац. ун-т ім. Юрія Федьковича. – Чернівці : ЧНУ : Рута, 2020. 167 с.
50. Фізіологія рослин: практикум / О.В. Войцехівська, А.В. Капустян, О.І. Косик та ін. За заг.ред. Т.В. Паршикової. Луцьк: Терен, 2010. 420 с.
51. Фізіологія рослин. /За редакцією професора М. М. Макрушина. Підручник. – Вінниця: Нова Книга, 2006. – 416 с.

Прилуцька Світлана Володимирівна

Бабицький Андрій Ігорович

Нестерова Наталія Георгіївна

Ткаченко Тетяна Анатоліївна

Бойко Ольга Анатоліївна

Дашенко Анна Валеріївна

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

ЧАСТИНА II

Навчальний посібник