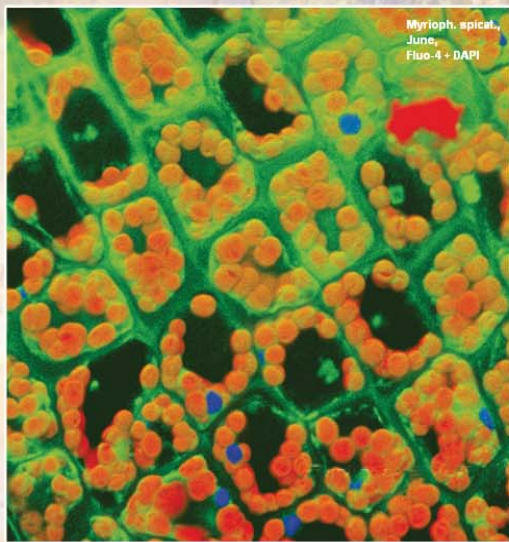


О.М. НЕДУХА

КЛІТИННА
ОБОЛОНКА РОСЛИН
І ФАКТОРИ
СЕРЕДОВИЩА



**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БОТАНІКИ ім. М.Г. ХОЛОДНОГО**

**NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE
M.G. KHOLODNY INSTITUTE OF BOTANY**

Olena M. NEDUKHA

**PLANT CELL WALL AND
ENVIRONMENT**

**KYIV
ALTERPRESS
2015**

Олена Макарівна НЕДУХА

**КЛІТИННА ОБОЛОНКА РОСЛИН
І ФАКТОРИ СЕРЕДОВИЩА**

**КИЇВ
АЛЬТЕРПРЕС
2015**

УДК 581.45: 57.012.4+579.234+575.113

ББК Е 564.15+Е556+Е041.12

Н42

Недуха О.М.

Н42 КЛІТИННА ОБОЛОНКА РОСЛИН І ФАКТОРИ СЕРЕДОВИЩА. – Київ: Альтерпрес, 2015 – 289 стр.: табл. 23, іл. 84 (кольорових – 19, чорно-білих – 65) список літ. – 53 стр.

ISBN 978-966-542-575-5

Монографія є узагальненням сучасних досягнень вивчення структури та функцій клітинних оболонок рослин в нормі та при дії екстремальних зовнішніх факторів. В окремих розділах послідовно висвітлюються основні структурно-функціональні характеристики полісахаридів оболонки, білків, кутину, лігніну та восків, їхня роль в рості та диференціації клітин. В книзі викладено результати численних досліджень процесу росту клітинних оболонок, ролі ферментів, фітогормонів, іонів кальцію і експресії генів, які задіяні в цих процесах, а також розглянуто модельні схеми структурної будови оболонок. В монографії підкреслено визначальну роль клітинних оболонок в адаптації рослин до дії екстремальних зовнішніх факторів, включаючи низькі температури, посуху, затоплення, засолення, забруднення ґрунтів іонами важких металів, мікрогравітацію та ін. Показано, що структурні та функціональні зміни клітинних оболонок за умов діючих стресорів допомагають рослині вижити і нормально функціонувати. Монографія розрахована на широке коло біологів і насамперед на ботаніків, фізіологів, цитологів, екологів та агрономів. Вона може використовуватися як довідник для викладачів ботаніки, фізіології рослин, клітинної біології й екології в університетах і сільськогосподарських інститутах і як посібник для аспірантів і студентів старших курсів, які спеціалізуються в галузі біології.

Відповідальний редактор: докт. біол. наук **Білявська Н.О.**

Рецензенти: член.-кор. НАН України **Черевченко Т.М.**

докт. біол. наук **Білявська Н.О.**

докт. біол. наук **Буюн Л.І.**

ISBN 978-966-542-575-5

© Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного
НАН України, 2015

© Недуха О.М., 2015

© «Альтерпрес», 2015

ЗМІСТ

| | |
|-------------|---|
| ВСТУП | 7 |
|-------------|---|

РОЗДІЛ ПЕРШИЙ

СКЛАД ПОЛІСАХАРИДІВ, ІНКРУСТУЮЧІ РЕЧОВИНИ та РІСТ КЛІТИННОЇ ОБОЛОНКИ

| | |
|---|-----|
| 1.1. Целюлоза | 11 |
| 1.2. Геміцелюлози | 24 |
| 1.3. Пектини та олігосахарини | 27 |
| 1.4. Білки оболонки | 32 |
| 1.4.1. Екстенсини | 32 |
| 1.4.2. Білки, збагачені лейцином | 34 |
| 1.4.3. Білки, збагачені проліном | 36 |
| 1.4.4. Пасльонові лектини | 37 |
| 1.4.5. Арабіногалактанові білки) | 38 |
| 1.5. Суберин, кутин, віск і лігнін | 39 |
| 1.5.1. Суберин | 39 |
| 1.5.2. Кутин | 41 |
| 1.5.3. Віск | 47 |
| 1.5.4. Лігнін | 51 |
| 1.6. Калоза | 65 |
| 1.7. Ріст клітинної оболонки | 76 |
| 1.7.1. Ріст оболонки | 76 |
| 1.7.2. Цитокінез | 78 |
| 1.7.3. Роль апарату Гольджі та ендоплазматичного ретикулуку | 81 |
| 1.7.4. Участь цитоплазматичної мембрани | 82 |
| 1.7.5. Субстрати синтезу полісахаридів | 85 |
| 1.7.6. Роль іонів кальцію | 86 |
| 1.7.7. Роль мікротрубочок | 90 |
| 1.7.8. Функції фітогормонів | 91 |
| 1.8. Моделі структури клітинних оболонки | 95 |
| 1.9. Плазмодесми | 101 |
| ПІДСУМКИ | 103 |
| ЛІТЕРАТУРА (розділ 1) | 105 |

РОЗДІЛ ДРУГИЙ
ВПЛИВ НЕСПРИЯТЛИВИХ УМОВ ОТОЧУЮЧОГО СЕРЕДОВИЩА НА СТРУКТУРУ та
ФУНКЦІОНУВАННЯ КЛІТИННИХ ОБОЛОНОК

| | |
|---|-----|
| Вступ | 135 |
| 2.1. Вплив іонів важких металів | 137 |
| 2.2. Дія низьких температур | 147 |
| 2.3. Посуха | 160 |
| 2.4. Засолення | 168 |
| 2.5. Зміна водного режиму | 174 |
| 2.5.1. Структурно-функціональні зміни клітинних оболонок | 175 |
| 2.5.2. Роль целюлози | 189 |
| 2.5.3. Значення калози | 197 |
| 2.5.4. Роль лігніну | 204 |
| 2.6. Дія біотичних факторів | 217 |
| 2.7. Ефекти мікрогравітації, кліностатування та гіпергравітації | 227 |
| 2.7.1. Мікрогравітація | 227 |
| 2.7.2. Кліностатування | 242 |
| 2.7.3. Гіпергравітація | 251 |
| ПІДСУМКИ | 254 |
| SUMMARY | 259 |
| ЛІТЕРАТУРА (розділ 2) | 263 |

ВСТУП

Останні кілька десятиріч увага дослідників була повернута до вивчення структурно-функціональної характеристики клітинної оболонки рослин, це пов'язано насамперед з розвитком біотехнології та нових технологій в легкій та харчовій промисловості, а також із використанням сучасних методів досліджень, зокрема молекулярно-генетичних та імунно-цитохімічних, які дозволили розкрити приховані процеси росту, де клітинна оболонка відіграє суттєву роль.

Клітини рослини оточені оболонками, які часто називають клітинними стінками. Клітинні оболонки складаються з полісахаридів та інших полімерів, зібраних в організовану структуру і зв'язаних як водневими, іонними, глюкозидними, ковалентними чи іншими зв'язками. Рослинні клітинні оболонки містять структурні білки та полісахариди (целюлозу, геміцелюлози та пектини), ферменти, фенольні полімери та інші складові, які модифікують фізичні та хімічні характеристики клітинної оболонки. Основна маса вуглецю, що синтезується при фотосинтезі транспортується для побудови полісахаридів клітинних оболонок; у процесі метаболізму асимілятив утворюються цукри, що можуть включатися до синтезу нових полімерів.

Клітинна оболонка рослин має значення для організму, як перший бар'єр, що відмежує рослинний організм від оточуючого середовища, як структура, що залучена до формування клітин, тканин та органів, а також до метаболізму рослини. Клітинна оболонка рослин також має значення й для людини, так, як її продукти використовуються для виготовлення текстилю, волокон, паперу, продуктів їжі, а також як складова для ліків.

Клітинна оболонка відіграє суттєву роль у наступних функціях клітин і тканин:

- визначає механічну силу стебел, пагонів рослин та стовбурів дерев, які досягають значної висоти;
- з'єднує між собою клітини й тканини та діє, як вкриваючий зовнішній «скелет», який контролює форму клітин та сприяє підвищенню тургорного тиску;
- обмежує ріст клітини до розтягу, бере участь у морфогенезі рослини залежно від властивостей клітинних оболонок;
- визначає зв'язок між тургором та об'ємом клітини;
- протидіє основному потоку води по ксилемі шляхом негативного тиску у структурах ксилеми;
- діє як дифузійний бар'єр, який обмежує потік іззовні макромолекул, які можуть доходити до цитоплазматичної мембрани; виступає, як основний бар'єр для інвазії патогенів у клітини;
- змінює свою структуру, склад та функціональні навантаження при різких або ж постійних змінах навколишнього середовища.

Клітинні оболонки певних тканин характеризуються різною структурою та складом. Так, клітинні оболонки паренхіми кори є тонкими, тоді як оболонки спеціалізованих клітин – епідермісу, коленхіми, трахеїд ксилеми та склеренхіми – товсті та багаточарові. Часто оболонки мають скульптуровану структуру, так як вони імпрегновані лігніном, кутином, суберином, воском чи кремнеземом. Окремі ділянки та типи оболонок можуть змінюватися за товщиною та складом речовин, і можуть мати пори чи плазмодесми. Так, зовнішня (периклінальна) оболонка епідермісу товстіша, ніж інші оболонки тієї ж клітини, вона імпрегнована кутином і воском, може містити кутикулярні пори. Оболонки ж меристематичних клітин тонкі й не містять кутину, лігніну чи воску.

За морфологією оболонки ділять на два основні типи: первинні і вторинні. Первинні оболонки утворюються в клітинах, що ростуть (у тканинах меристеми та камбію). Первинна клітинна оболонка складається із целюлозних мікрофібрил, які знаходяться в гідратованому матриксі. Така структура забезпечує як міцність, так і розтяг. Склад полімерів матрикса первинних оболонок залежить від типу клітин та виду рослини. Вторинні клітинні оболонки, які утворюються після припинення росту, можуть ставати високо спеціалізованими за структурою й складом, забезпечуючи диференціацію клітини. Тонкий шар серединної пластинки (серединна ламела) видно між оболонками сусідніх клітин на їх стику. В оболонках знаходяться плазмодесми, через які пасивно транспортуються великі молекули, та активно – білки й нуклеїнові кислоти.

Клітинні оболонки вищих рослин є першими мішеннями дії оточуючих зовнішніх факторів, особливо, несприятливих для оптимального росту і розвитку рослини, і тому вони реагують на зміни екологічних факторів на структурно-метаболічному рівні, допомагаючи рослині адаптуватися до них.

Монографія складається із двох частин. У першій частині «Склад полісахаридів, інкрустучі речовини та ріст клітинної оболонки» висвітлюються склад і молекулярна структура полісахаридів оболонок вищих рослин, а також інкрустуючих клітинну оболонку речовин, включаючи кутин, віск, лігнін та калозу. Підкреслюється їхні зміни в процесі росту клітин та диференціації клітин на структурному, біохімічному та молекулярно-генетичному рівнях, а також висвітлено основні структурні зміни клітин, участь органел та сучасні моделі будови клітинних оболонок.

У другій частині «Вплив несприятливих умов навколишнього середовища на структуру та функціонування клітинних оболонок» наведені сучасні уявлення про структуру та механізми змін клітинних оболонок вищих рослин при забруднення ґрунтів іонами важких металів, дії холоду, засоленні, посусі, зміні водного режиму, дії патогенів, а також за умов зростання рослин в умовах зміненої гравітації. Крім численних літературних даних на основі результатів багаторічних досліджень автора з використанням сучасних методів цитологічного аналізу представлені результати порівняльних досліджень структурно-функціональної організації клітинних оболонок листків повітряно-водних послин *Alisma plantago-aquatica* L., *Sium latifolium* L., *Trapa natans* L., та *Sagittaria sagittifolia* L., а також

гідрофітів *Myriophyllum spicatum* L., *Potamogeton pectinatus* L. та *P. perfoliatus* L., які були відібрані в якості модельних об'єктів для вивчення природної адаптації рослин як до зміни водного режиму, так і дії постійного водного оточення в природних умовах.

Крім того, у монографії використані власні експериментальні дані, а також численні літературні джерела щодо структурно-функціональних характеристик клітинних оболонок рослин, що вирощувалися в умовах зміненої гравітації Землі на літальних космічних апаратах та в лабораторних умовах із використанням горизонтальних кліностатів та центрифуг, які частково відтворюють умови й дію мікрогравітації та гіпергравітації. В якості модельних об'єктів при дослідженні дії зміненої гравітації автор використовує наступні об'єкти: проростки *Triticum durum* L. та протонему моху *Funaria hygrometrica* Hedw., а також протопласти, виділені із листків *Brassica oleracea* та *Solanum tuberosum*. Космічні біологічні експерименти виконувалися під керівництвом видатного ботаніка, проф., член-кор. НАНУ Єлизавети Львівни Кордюм, якій автор щиро вдячна за ідеї та постійну підтримку в здійсненні та участі численних космічних експериментів, у тому числі й у спільному українсько-американському експерименті, проведеному на космічному кораблі «Шатл».

РОЗДІЛ ПЕРШИЙ

СКЛАД ПОЛІСАХАРИДІВ, ІНКРУСТУЮЧІ РЕЧОВИНИ та РІСТ КЛІТИННОЇ ОБОЛОНКИ

1.1. ЦЕЛЮЛОЗА

Целюлоза – основний каркасний полісахарид клітинних оболонок, який надає їм цупкості й міцності. У первинній оболонці її вміст становить до 20 % (Preston, 1964; 1974), у вторинній – значно більший. Целюлоза – це лінійний полімер, який складається із β -(1 \rightarrow 4)-D-глюкопіранозних одиниць із конформацією 4C_1 , яка стабілізує структуру «крісла» (рис. 1.1.1), тобто між собою залишки глюкозних мономерів зв'язані β -1,4-глюкозидними зв'язками (рис. 1.1.2). Молекула целюлози містить від 2000 до 14000 залишків глюкози. Прямі незігнуті ланцюги молекул целюлози спаковуються у пучки, що містять до 200 ланцюгів і розміщуються паралельно один до одного, вони утримуються між собою водневими зв'язками. Паралельні пучки молекул целюлози формують структури які названо мікрофібрилами, ці структури занурені в матрикс, що складається з пектинів, білків і геміцелюлоз. Целюлоза досить міцна, володіє високою здатністю до розтягу, нерозчинна у воді, пружна, довговічна та злегка еластична (Gardner, Blackwell , 1974; Колвин, 1974; Тарчевский, Марченко, 1985).

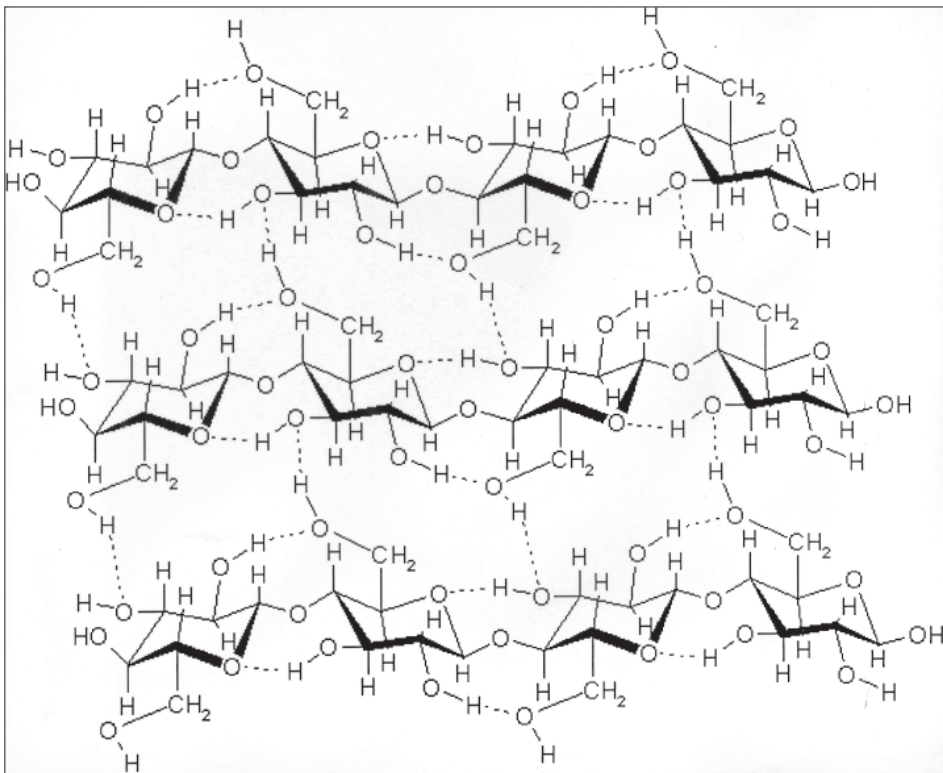


Рис. 1.1.1. Фрагмент лінійного полімеру целюлози, що складається із з β -(1 \rightarrow 4)-D-глюкопіранозних одиниць (Preston, 1964; 1974)

Мікрофібрила є структурною одиницею целюлози. Діаметр зрізу мікрофібрили може коливатись від 2 до 20 нм та мати довжину від 100 нм до кількох десятків мм. Її розмір залежить від типу клітин і видової приналежності (Frey-Wyssling, 1976). На молекулу целюлози в середньому припадає близько 8000 залишків глюкози, їх розмір також коливається, як і довжина мікрофібрили й залежить від тканини. Так, діаметр фібрили целюлози варіює від 25 до 30 нм у валонії та інших зелених водоростей і від 5 до 10 нм – у більшості вищих рослин (Ha et al., 1998). Мікрофібрили можуть мати кілька нанофібрил целюлози, кожна з яких у своєму складі має 10 ланцюгів, їх склад також залежить від виду: так у вида *Spirogyra* (Herth, 1983) мікрофібрили складаються з 36 глюкозових ланцюгів. У деяких видів дво-нанометрові фібрили можуть бути вкритими ксилогалактуронатом, який утворює каркас (Ha et al., 1998).

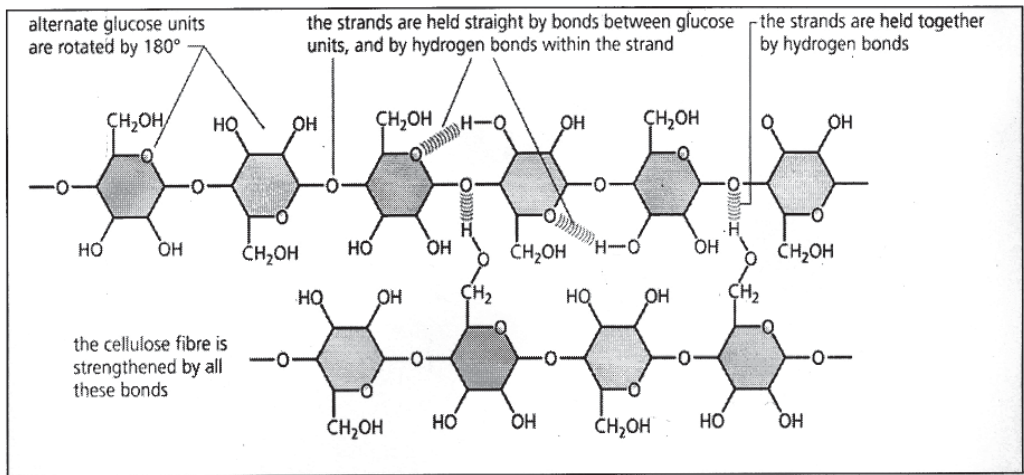


Рис. 1.1.2. Глюкозні мономери, сполучені між собою β -1,4-глюкозидними зв'язками. У результаті маємо прямі незігнуті ланцюги молекули, які упаковані в пучки, що містять до 200 ланцюгів зв'язаних водневими зв'язками (Jarvis, 2000)

Використання методу ядерно-магнітного резонансу та рентгено-структурної дифракції показало, що є два типи целюлози, які назвали 1α - та 1β -целюлоза (Brown, 1996). Целюлоза 1α існує, як одно-ланцюгова одиниця оболонки клітини, тоді як 1β -целюлоза має дволанцюгову одиницю. Так у рослини валонії вміст 1α -целюлози становить біля 64 %, у бавовника – до 20 % (Brett, 2000). Обидві форми целюлози складаються з ланцюгів залишків глюкози, які повернуті один до одного на 180° , утворюючи плоскі стрічки, в яких целюлоза складається із численних повторів таких субодиниць. Ярвіс (Jarvis, 2000) показав, що дві форми целюлози можуть перетворюватись одна в одну шляхом згинання. Він припустив, що швидке скручування відбувається, коли целюлоза з'являється з розетки й розміщується поряд з оболонкою. Нішіяма зі співаторами (Nishiyama et al., 2003) зробили висновок, що зменшення глюкозових ланцюгів може приводити до пере-

творення 1α целюлози в целюлозу 1β . Молекулярну вагу окремого глюканового ланцюга тяжко визначити, так, як при екстрагуванні може відбуватися певна деградація ланцюгів. Аналіз целюлози із вторинної оболонки бавовника припускає ступінь полімеризації становить від 14000 до 15000 (Brett 2000). Целюлоза з первинної оболонки має досить низьку молекулярну вагу – до 8000 (Brown, 2004). На поверхні молекул целюлози знаходиться низько молекулярна целюлоза з мол. масою 2000-4000, яка має довжину до 1 мкм.

Кристалізація целюлози. В оболонках целюлоза, зазнаючи кристалізації, утворює ланцюгові ґрати. Запропоновано декілька моделей кристалічного «ядра» мікрофібрили. Відповідно ранньої моделі Д. Денісона й Р. Престона (Preston, 1979), що стала загальноприйнятною, кристалічне ядро мікрофібрил характеризується високим ступенем упорядкування: навколо ядра розміщується менш упорядкована зона, від величини останньої залежить градієнт кристалічності. Товщина паракристалічного футляра залежить від виду рослини й типу клітин і становить від 3 до 8 нм (Willison, Brown, 1977; 1978). За даними рентгенструктурного аналізу й негативного забарвлення поперечний розмір кристалічної частини мікрофібрили в середньому становить близько 3,5 нм. Частина її молекул, більша або менша, тому в місцях дотику молекул мікрофібрил целюлози кристалічні ґрати руйнуються (Гудвін, Мерсер, 1986, а), і на цих ділянках молекули менше впорядковані. Ця фаза називається паракристалічною, а целюлоза в ній є аморфною, завдяки чому сюди проникає вода.

Комірка кристалічної целюлози складається із залишків, які належать п'яти молекулам целюлози. Целюлозні ланцюги втримуються в кристалічній структурі водневими зв'язками або силами Ван-дер Ваальса до формування мікрофібрили (Nishiyama et al., 2002; 2003). Доведено, що міцність мікрофібрил залежить не від вмісту залишків D-глюкози, а від ступеня її кристалічності, яка забезпечується міцними ковалентними зв'язками між гідроксильною групою при атомі С-3 одного глюкозидного залишка й киснем піранозного кільця наступного залишка глюкози (Фрей-Висслінг, Мюллеталер, 1968).

Кристаліграфічними методами встановлено, що кристалічна целюлоза може знаходитись у двох різних фазах, тобто целюлоза може характеризуватися кристалічним диморфізмом: у бактерій та водоростей – це 1α -фаза кристалів, тоді як у вищих рослин – це 1β -фаза, ці фази відрізняється дифракцією, розмірами сторін кристалів та формою кристалів (рис. 1.1.3) (Koyama et al., 1997). Моноклінна форма (1β целлюлоза) має два паралельні ланцюги молекул, триклінна (1α целлюлоза) – один ланцюг молекул (Gardner, Blackwell, 1974; Sarko, Muggli, 1974; Perez et al., 2011). Для моноклінного кристалу целюлози характерні наступні розміри сторін: $a - 7,784 \text{ \AA}$, $b - 8,201 \text{ \AA}$, $c - 10,338 \text{ \AA}$, $\gamma^\circ - 96,5^\circ$; тоді як для триклінного кристалу целюлози характерні інші розміри, а саме: $a - 6,717 \text{ \AA}$, $b - 5,862 \text{ \AA}$, $c - 10,400 \text{ \AA}$, $\alpha^\circ - 118,08^\circ$; $\beta^\circ - 114,80^\circ$; $\gamma^\circ - 80,37^\circ$, відповідно (Sugiyama et al., 1991).

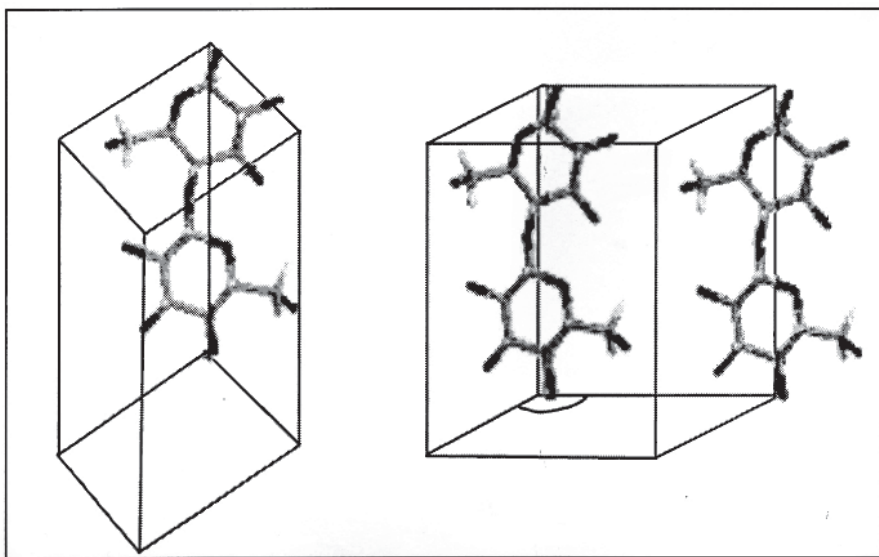


Рис. 1.1.3. Схематичний вид кристалів целюлози: зліва – триклинна будова кристалу (1α целюлоза), справа – моноклинна структура целюлози (1β целюлоза). Моноклинний кут γ – тупий (Koyama et al., 1997).

Синтез целюлози. Целюлоза синтезується на внутрішній поверхні цитоплазматичної мембрани кожної клітини. Вона не може синтезуватися всередині клітини, так як – це водно-нерозчинний полімер із твердою незгинаючою жорсткою лінійною структурою.

Як відомо, мікрофібрила целюлози синтезується за допомогою ферменту целюлозосинтетази (CelS), яку названо термінальним комплексом або ж розеткою (Giddings et al., 1980). Целюлозосинтетаза – це древній фермент, який знайдено у бактерій та водоростей (Nobles et al., 2001). У термінальному комплексі містяться шість частинок-розеток (6 субодиниць целюлозосинтетази), кожна з яких відповідає за синтез від 4 до 6 глюканових ланцюгів; тобто цей комплекс синтезує 24-36 ланцюгів, що збираються у мікрофібрилу (Doblin et al., 2002). Частки розетки – це каталітичні домени целюлозосинтетази, які простягаються від поверхні плазмалеми в цитоплазму на глибину до 35 нм (Bowling, Brown, 2008). Велика частина целюлозосинтетази, яка розчинна у воді, локалізується із цитоплазматичної сторони, куди підходять субстрат УДФ-глюкоза та фермент УДФ-глюкозо-пірофосфорилаза. Сахарозосинтетаза також може брати пряму участь в синтезі субстрату (Amor et al., 1995). Припускають, що глюкозид зитостерин також може бути задіяним в синтезі целюлози (Pen et al., 2002). Очевидно, що синтез ланцюгів целюлози починається з нередукованого кінця. Відомо, що для активації каталітичної активності целюлозосинтетази необхідна наявність іонів магнію (Lai-Kee-Him et al., 2002), які стійко зв'язуються з доменами білка. Крім того, для початку синтезу целюлози також необхідна затравка – стерольний глюкозид (Pen et al., 2002).

Єдиної думки про шляхи синтезу целюлози дотепер не існує. Запропоновано кілька моделей цього процесу (Carpita, 1996; Delmer, 1999; Buckeridge et al., 2001; Saxena et al., 2001; Vergara, Carpita, 2001; Saxena, Brown, 2005; Guerriero et al., 2010). Згідно гіпотези, яку запропонував ще у 1999 році Делмер (Delmer, 1999), кожний поліпептид целюлозосинтетази синтезує лише один глюкановий ланцюг, вісім мембранних ділянок утворюють канал, через який виштовхується один глюкановий ланцюг (рис. 1.1.4, А). Згідно цієї моделі синтез целюлози стикається з просторовою проблемою, так, як кожний глюкозидний залишок повинен бути повернутий до кожного сусіднього залишку на 180° . Таким чином, положення О-4 нередукованого термінального кінця цукру акцепторного ланцюга витісняють кілька ангстрем із кожної наступної одиниці (рис. 1.1.4, В). Для наступного транспорту глюкозида сайт каталізу повинен переміщуватися на кілька ангстрем у середині білка целюлозосинтетази, у результаті відбувається поворот акцепторного ланцюга на 180° . Синтез кількох одиниць глюкозидного ланцюга завжди підтримує положення акцептора (О-4), як ланцюга, що виштовхується. За моделю Карпіта (рис. 1.1.4. С; Carpita, 2011) подвійні глюкозні або ж олігомерні одиниці додаються до нередукованого кінця для забезпечення $(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D}$ -з'єднань, які дуже точно фіксують глюкозидні одиниці без вставки субстрату чи активного сайту. Якщо один сайт руйнується, то відбувається наступне прикріплення в положенні О-3, що призводить уже не до синтезу целюлози, а до синтезу калози (Buckeridge et al., 2001; Carpita, 2011)

Інші автори (Bessueille, Bulone, 2008) допускають, що спочатку синтезуються ланцюги $\beta\text{-}(1\rightarrow4)$ глюканів, які вивільнюються в оболонку, а потім починає брати участь мембранно зв'язаний фермент ендоглюканаза Коріган, функція якого, як припускають, полягає у регуляції ступеня полімеризації ланцюгів целюлози (Mølhøj et al. 2002).

Уридиндифосфат глюкоза проходить через внутрішню порожнину (канал) розетки ферменту целюлозосинтези. Кількість ізоформ целюлозосинтетази є видоспецифічною, і кожна ізоформа кодується окремими генами (Bessueille, Bulone, 2008). За моделлю Безуле та Булоне (рис. 1.1.5) (Bessueille, Bulone., 2008) крім целюлозосинтетази в синтезі целюлози можуть брати участь й інші ферменти: мембранозв'язана сахарозосинтетаза (Amor et al., 1995), мембранозв'язана ендо-(1-4)- β -глюканаза, яку називають Коріган (Nicol et al., 1998), анексини (Hofmann et al., 2003), актин, тубулін та білки, що транспортують ліпіди (Haigler et al., 2001; Molhoj et al., 2002). Ідентифіковано елементи цитоскелету, такі, як кортикальні мікротрубочки, які, можливо, беруть участь у транспорті мікрофібрил целюлози (Baskin 2001; Somerville, 2006). Ззовні структур апарату Гольджі є мембранний білковий компонент, який містить Коріган (Robert et al., 2005), що представляє собою динамічний фактор, який зв'язаний із сіткою мікротрубочок та плазмалемою, останні, очевидно, орієнтують і направляють комплекс целюлозосинтетази для синтезу целюлози.

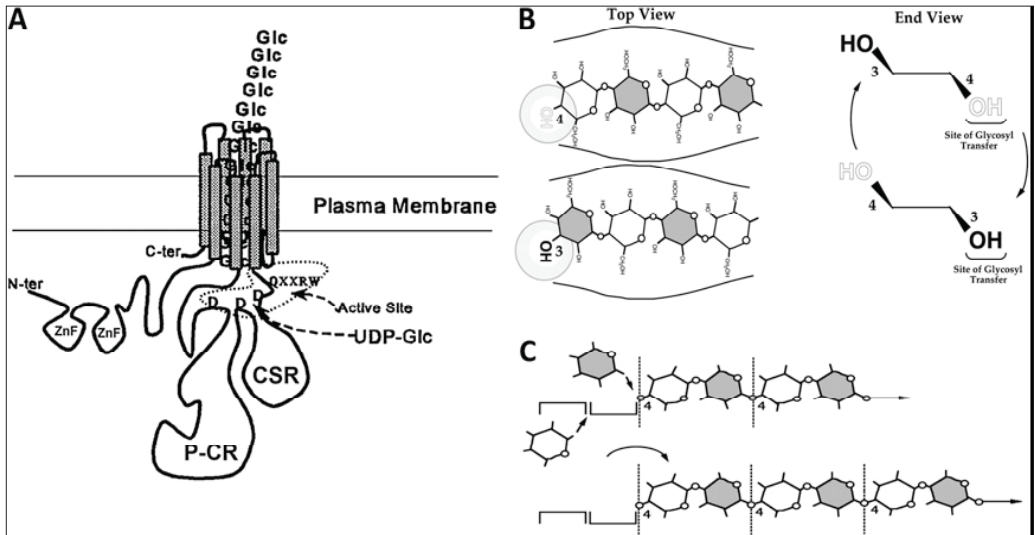


Рис. 1.1.4. Схематична модель роботи целюлозосинтетази та формування $(1 \rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D}$ -глюкозидних зв'язків (Carpita, 2011).

A – перша модель структури білкової субодиниці целюлозосинтетази (CesA) була запропонована Делмером (Delmer, 1999). Згідно цієї схеми для формування синтетазного комплексу кожна субодиниця целюлозосинтетази повинна бути з'єднана з такими ж субодиницями. Показана наявність потенціальних сайтів: консервативної ділянки ZnFs, консервативної зони P-CR (plant-specific conserved region) та специфічної зони CSR (class-specific region).

B – просторова модель синтезу целюлози. Додатково, один глюкозидний залишок із $(1/4)\text{-}\beta\text{-D}$ -з'єднанням при відсутності кінця ланцюга чи активного сайту синтетази повинен бути в русі O-4 на кілька ангстремів (Carpita, 2011).

C – просторова модель каталітичного димеру під час одночасного транспорту глюкозидів для формування залишку целобіози в O-4 положенні. Синтез кількох одиниць завжди підтримує положення акцептора (O-4), як ланцюга, що виштовхується. Модель каталітичного димеру показує, що при руйнації одного сайту відбувається наступне прикріплення в положенні O-3, що призводить вже до синтезу калози, а не целюлози (Buckeridge et al., 2001; Carpita, 2011)

Локалізацію та структуру целюлозосинтетази можна побачити за допомогою методу заморожування-сколювання плазмалеми клітини судинних рослин; вона представляє собою симетричну розетку, яка складається з шести глобулярних комплексів. Розетки целюлозосинтетази також виявлені й імунологічним методом (Kimura et al., 1999). Херз (Herth, 1983), базуючись на вимірах розміру мікрофібрил, припустив, що кожна із шести субодиниць розетки може синтезувати шість $\beta\text{-1,4}$ -глюканових ланцюгів, які кристалізуються в мікрофібрилу із 36 глюкановими субодиницями. У більшості водоростей, целюлозосинтетаза називається термінальним комплексом (ТСs), складається з розміщених променями глобулярних структур, які формують стрічки целюлозної розетки, і розміщені

на кінцях мікрофібрили (Montezinos, Brown, 1976). Тсекокс (Tsekos, 1999) відкрив різні типи термінальних комплексів. У водорості *Oocystis apiculata* термінальний комплекс має ширину 30-35 нм та довжину до 500 нм і складається з трьох рядів 30-40 часток, кожна з яких має діаметр 7 нм. Лінійні термінальні комплекси виявлені в оболонках клітин туніки *Vigna angularis* (Kimura et al., 1999), *Acetobacter xylinum* (*Gluconacetobacter xylinus*) (Brown 1996; Ross et al., 1991) та в слизу *Dictyostelium discoideum* (Grimson, et al., 1996). Таким чином, механізми, які залучені до утворення целюлози у різних рослин змінювались в процесі еволюції до утворення полімерів з різними властивостями.

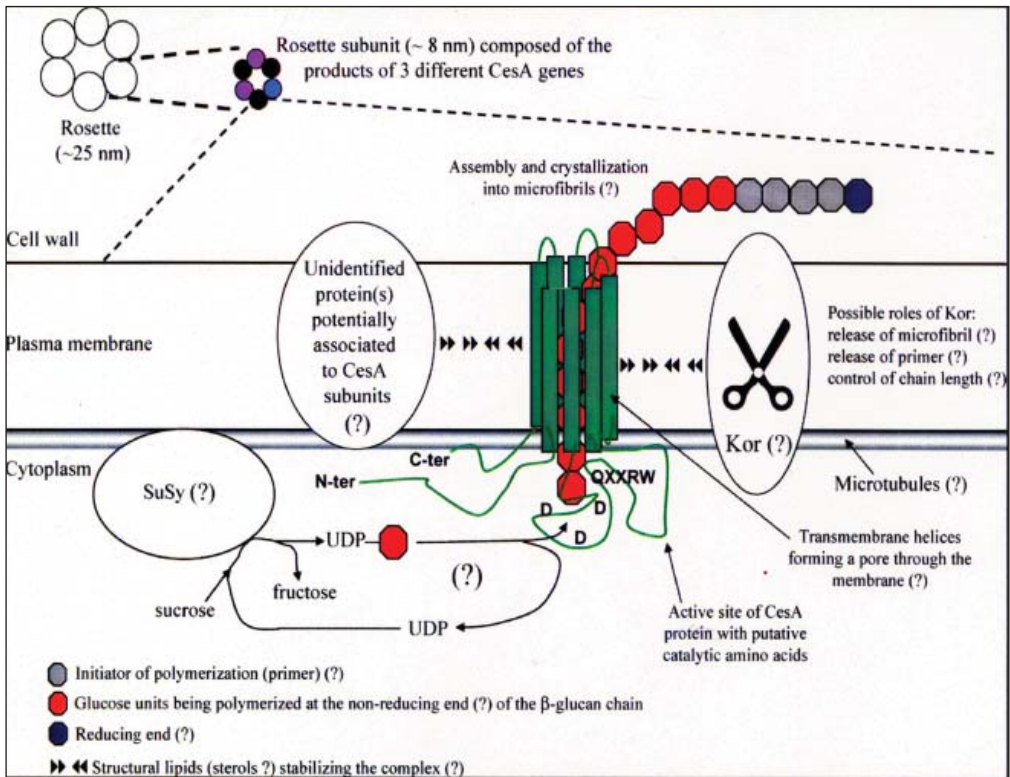


Рис. 1.1.5. Гіпотетична модель біосинтезу целюлози у вищих рослин, згідно якої: **1** – відбувається залучення праймерів для початку полімеризації, **2** – орієнтація глюканового ланцюга стає витягнутою; **3** – механізм переміщення целюлозних ланцюгів проходить через цитоплазматичну мембрану (як за Delmer 1999); **4** – відбувається кристалізація субодиноць для формування мікрофібрили; **5** – асоціація мембранозв'язаного білка із субодиноцями целюлозосинтетази (*CesA*); **6** – зв'язок комплексу целюлозосинтетази з мікротрубочками; **7** – участь білка Коріган (*Kor*), сахарозсинтетази (*SuSy*) та структурних ліпідів. Інші білки, що регулюють субодиноці не представлені. Стехіометрія різних субодиноць целюлозосинтетази поки невідома (Bessueille, Bulone, 2008)

У квіткових рослин паракристалічна структура целюлози містить 2-3 дюжини, тобто 24-36 ланцюгів (1/4)- β -D-глюканів. Однак, мікрофібрила, що містить 36 глюканових ланцюгів повинна мати діаметр 3,8 нм, але за даними ядерно магнітної спектроскопії діаметр мікрофібрили менший і становить 2,4 нм, це складає дві дюжини ланцюгів (Kennedy et al., 2007). Гени целюлозосинтетази знайдені в зелених водоростях і вони схожі на аналогічні гени у квіткових рослин (Roberts et al., 2002). Встановлена амінокислотна послідовність CesA у рослин подібна до такої у білків бактеріальних целюлозосинтетаз CesA (Saxena et al., 1995). У вищих рослин гени цього ферменту кодують поліпептиди біля 110 кДа (Delmer, 1999). Єдиної думки про шляхи синтезу целюлози досі немає. Запропоновано кілька моделей цього процесу (Delmer, 1999; Saxena, Brown, 2005; Guerriero et al., 2010).

Згідно каталітичної димерної гіпотези (Carpita, 2011) два димери CesAs утворюють комплекс, що синтезує один (1 \rightarrow 4)- β -D-глюкановий ланцюг (рис. 1.1.6, А). Гомодимеризація (чи гетеродимеризація) CesAs відтворює активні сайти, що формують целобіозні одиниці, які потім прикріплюються до нередукованого кінця ланцюга глюкану. Димеризація також може відбуватися й в 16 мембранних спарених доменах. На рисунку 1.1.6 показана димеризація на двох ZnF-доменах, що здаті до об'єднання двох сусідніх замість одного комплексу, а також показано шість таких комплексів, що зв'язані з однією часткою шестиблокової розетки (Carpita, 2011).

Відкладення мікрофібрил целюлози. За ранніми роботами орієнтація відкладення мікрофібрил целюлози відбувається паралельно орієнтації мікротрубочок, що привело до появи гіпотези про роль мікротрубочок у синтезі мікрофібрил целюлози (Ledbetter, Porter, 1963). За останніми даними при критичному перегляді цієї гіпотези (Baskin 2001), різних моделей синтезу целюлози (Giddings, Stachelin, 1991) і експериментальних даних (Alberts et al., 2002) з'явилися нові дані про зв'язок руху целюлозосинтетази між кортикальними мікротрубочками та плазмалемою, та про зв'язок руху мікрофібрил між колією кортикального тубуліну. Енергія для полімеризації забезпечується завдяки транспорту целюлозосинтетазного комплексу через плазматичну мембрану. Але прямих доказів про залучення мікротрубочок до орієнтації мікрофібрил немає. Так, застосування інгібіторного аналізу (при обробці проростків арабідопсису мікротрубочко-дестабілізуючою речовиною – оризалином або ж мікротрубочко-стабілізуючою речовиною – таксоллом) не викликало змін в орієнтації мікрофібрил целюлози (Baskin et al., 2004). З іншої сторони, недавно цитохімічними методами показано, що вставка ферменту целюлозосинтетази в плазмалему відбувається за участю везикул апарату Гольджі, які рухались вздовж кортикальних мікротрубочок (Crowell et al., 2009).

Рослинна целюлозосинтетаза активується секрецією. Так, на плазмалемі локалізуються кіназа або фосфатаза, які можуть змінювати активність целюлозосинтетази шляхом інактивації апарату Гольджі, в якому синтезуються попередники термінального комплексу (Nuhse et al., 2004). При розтягу клітинної оболонки синтез целюлози в основному потребує фіксованого вуглецю, тобто залежить від метаболізму вуглецю. Сахарозосинтетаза, яка відповідає за синтез УДФ-глюкози, зв'язується з плазмалемою (Haigler et al.,

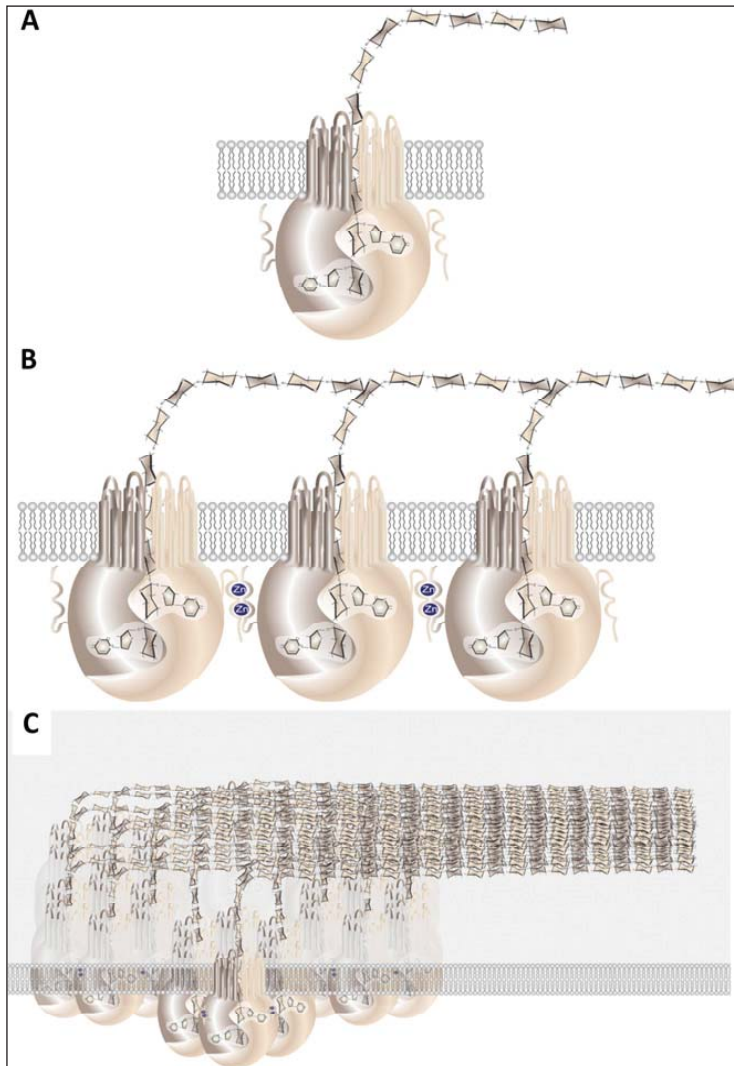


Рис. 1.1.6. Димерна модель синтезу целюлози за участю целюлозосинтетази. На рисунку **A** – представлено модель каталітичного димеру CesAs, що формує один (1→4)–β-D–глюкановий ланцюг; на рис. **B** – схема формування гетеродимерів, що синтезують одиниці целобіози; на рис. **C** – схема формування молекул целобіози за участю шести димерних комплексів (Carpita, 2011).

2001). Це дозволяє припустити, що сахароза підтримує високу швидкість синтезу целюлози. Хейглер зі співавторами припустили, що, сахарозосинтетаза може бути каналом-русллом для УДФ-глюкози під час синтезу целюлози. Встановлено, що целюлозосинтетаза регулюється на посттрансляційному рівні, і, як відомо, повинна бути фосфорильованою, але механізми регуляції її активності поки невідомі. Целюлозосинтетаза відноситься до великої родини білків глюкозилтрансфераз (Haigler et al., (2001).

Вміст та орієнтація целюлози. Вміст целюлози у первинних клітинних оболонках майже такий, як і вміст геміцелюлоз (табл. 1.1) (McNeil et al., 1979), тоді як у вторинних оболонках вміст целюлози підвищується і залежить від типу клітин і виду, він може досягати 90-95 % від маси клітинних оболонок; наприклад у клітин бавовника (Тарчевський, Марченко, 1985). Це пов'язано з ростом та диференціацією клітин і тканин. Дослідження росту суспензійних клітин моркви розтягом показало, що їхній розмір збільшується майже в 50 разів (McCann et al., 1993), відповідно зростає й вміст целюлози.

Орієнтація мікрофібрил целюлози в оболонці, як і її вміст, залежить від типу клітин та типу оболонки, виду та стану розвитку клітини. Тому й дані щодо орієнтації мікрофібрил можуть носити суперечний характер. Так, у різних лабораторіях дослідники (Carpita, Gibeaut, 1993; Baskin et al., 1999; Sugimoto et al., 2000), вивчаючи клітини епідермісу цибулі та різні клітини коренів методом механічної анізотропії, показали, що, в основному, мікрофібрили орієнтуються паралельно та поперечно до довгої осі клітини. Однак, в епідермісі коланхое напрямком мікрофібрил був ізотропний, тобто мікрофібрили розміщувалися в різних напрямках (Kerstens et al., 2001).

ТАБЛИЦЯ. 1.1.1. **Склад та вміст полісахаридів первинної клітинної оболонки суспензійної культури явора** (McCann et al., 1993)

| Компонет оболонки | Вміст, % |
|------------------------|----------|
| Пектинові полісахариди | 34 |
| Геміцелюлози | 24 |
| Целюлоза | 23 |
| Білки | 19 |

Процес розтягу клітин супроводжується зміною орієнтації (архітектури) мікрофібрил целюлози. Використовуючи метод глибокого заморожування та травлення з подальшим утворенням репліки поверхні суспензійних клітин моркви, було виявлено, що в клітинах кулястої форми мікрофібрили целюлози не формували щільної сітки (павутини); серед поперечнозв'язаних мікрофібрил можна чітко розрізнити досить тонкі фібрили целюлози (McCann et al., 1993). У кулястоподібних чи злегка витягнутих клітин мікрофібрили орієнтуються хаотично або ж вздовж клітини (рис. 1.1.7, а).

Орієнтація мікрофібрил у витягнутих клітинах в основному поперечна до довгої осі клітини (рис. 1.1.7, б). Поперечна орієнтація мікрофібрил (відносно довгої осі листкової пластинки) спостерігається й в адаксіальних оболонках епідермісу та клітинах мезофілу листків гідрофітів, зокрема, це відмічено в повітряних листках *Sagittaria sagittifolia* (рис. 1.1.8, а), тоді як у міжклітинниках мезофілу підводних листків орієнтація мікрофібрил може бути хаотична (рис. 1.1.8, б) (Недуха, 2013).

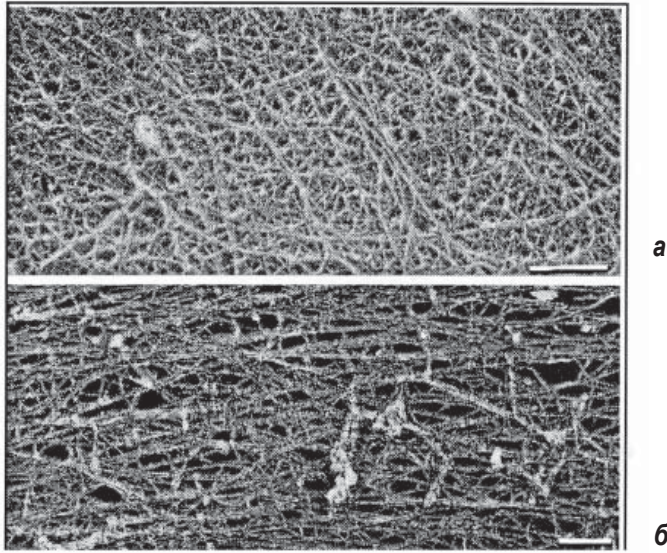


Рис. 1.1.7. Мікрофотографії репліки поверхні суспензійних клітин моркви після наплення платиною та вуглецем: **а** – поверхня кулястих клітин: видно сітку фібрил целюлози, що розміщуються як хаотично, так і під кутом; на нижньому рисунку (**б**) – поверхня витягнутих клітин: мікрофібрили целюлози розміщуються поперечно до довгої осі клітини. Реперна мітка = 200 nm (McCann et al., 1993)

Методом інфрачервоної спектроскопії в епідермальних клітинах цибулі виявлена орієнтація мікрофібрил під правостороннім кутом до довгої осі клітин (McCann et al., 1993).

Гени целюлозосинтетази. На модельному об'єкті *Arabidopsis thaliana* виявлено, що в синтезі целюлози бере участь велика родина генів целюлозосинтетази (*CesA*) та целюлозосинтетазоподібних (*Csl*) [(cellulose synthase/cellulose synthaselike (*CesA/Csl*)] генів, що включають: 10 генів целюлозосинтетази (*CesA*) та 29 целюлозосинтетазоподібних генів (*Csl*) (Richmond, 2000; Carpita, 2011). У дводольних та в трав є певні відмінності. Кукурудза має 12 генів білка CESA (Appenzeller et al., 2004), у ячменя – 8 (Burton et al., 2004), у тополі – 7 (Josh et al., 2004). У зелених водоростей гени CESA білків демонструють аналогічність у послідовності, як і у вищих рослинах, і вони також мають законсервовані інтрони структури (Roberts, Roberts. 2004). Таким чином, вищі рослини мають серію подібних генів. Вміст амінокислот коливається у цих білках від 985 до 1088. Вони мають вісім трансмембранних доменів. Два домени розміщуються біля аміно-кінця, а шість – біля карбоксильного. N-термінальна зона кожного білка має цистеїн-збагачений домен з таким складом: $CX_2CX_{12}FXACX_2CX_2PXCX_2CX-EX_5CX_3CX_2C$ (Saurin et al., 1996). Великий центральний домен, який має у своєму складі 530 амінокислот, розташований між двома зонами трансмембранних доменів, які, очевидно, є цитоплазматичними.

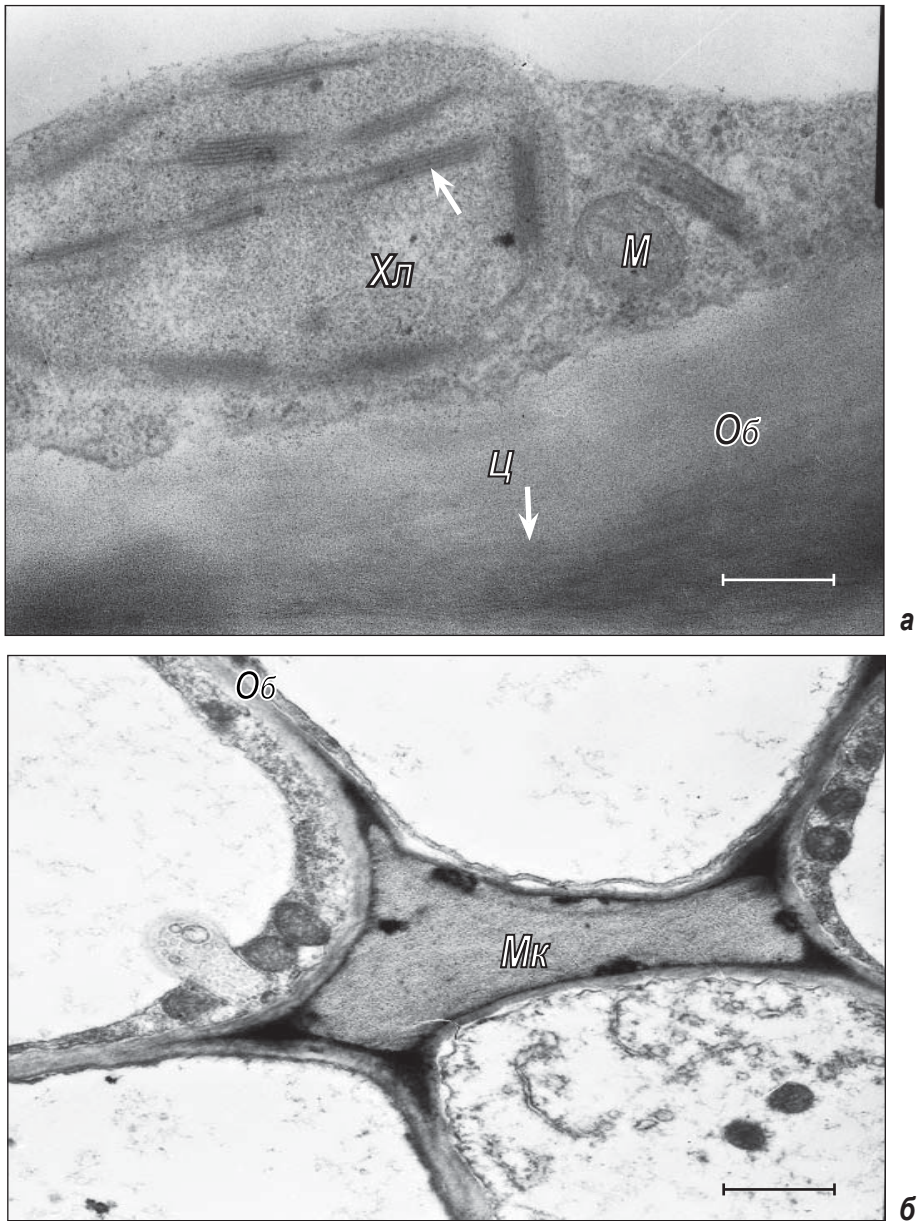


Рис. 1.1.8. Фрагмент клітини мезофілу надводних (а) та підводних (б) листків *S. sagittifolia*. (Недуха, 2013).

Позначення: **Об** – клітинна оболонка, **М** – мітохондрія, **Мк** – міжклітинники, **Хл** – хлоропласт, **Ц** – мікрофібрили целюлози (вказані стрілкою).

Реперна мітка = 1 мкм

У синтезі целюлози в первинній оболонці беруть участь наступні білки: CESA1, CESA2, CESA3 та CESA6 (Scheible et al., 2001; Burn et al., 2002). При цьому, CESA1 та CESA3 є обов'язковими при синтезі целюлози. Білок CESA1 з арабідопсиса має 5 N-зціплених сайтів глікозилування (Gillmor et al., 2002).

Хейглер (Haigler, 2003) представив огляд та гіпотезу про те, що сахарозосинтетаза (sucrose-synthase) може служити каналом для УДФ-глюкози в процесі синтезу целюлози. Згідно цієї гіпотези шість генів сахарозосинтетази арабідопсису можуть служити для аналізу генів мутанта. Аналіз експресії генів целюлозосинтетази (CESA) із зародків арабідопсиса показав, що в них відбувається експресія генів лише білків CESA1, -2, -3, та -9 (Veeckman et al., 2002). За іншими даними (Burton et al., 2000) експресія CESA1, -2, -3, -5, -6 та -9 відбувається лише в первинних оболонках; ці целюлозосинтетази відносять до групи CESAs-1, тоді як CESA-4, -7 та -8 в основному експресуються у вторинних оболонках клітин стебла, і ці CESA відносять до групи 2 (Hamann et al., 2004): ген білка CESA4 експресується в основному в провідних тканинах (Holland et al., 2000), тоді як гени CESA7 та CESA8 пов'язані тільки із ксилемою та зоною провідних пучків (Turner et al., 2001). Таким чином, у синтезі целюлози беруть участь спеціалізовані гени, які функціонують тимчасово та залежно від типу тканини рослини (Somerville, 2006).

Не дивлячись на численні огляди з питань синтезу целюлози, багато питань є ще невирішеними, зокрема: целюлоза 1α та 1β синтезуються однією чи різними целюлозосинтетазами? Як залишки глюкози повертаються на 180° для формування молекули целюлози? Скільки та яких білків необхідно для зборки термінальних комплексів та синтезу целюлози крім целюлозосинтетази? Скільки ізоформ CeS існує у рослинах? Яким чином регулюється робота целюлозосинтетаз (на транскрипційному чи посттранскрипційному рівнях)? Які білки контролюють кристалічність целюлози? Саме ці питання та багато інших, пов'язаних із технологічними процесами використання целюлози у різних галузях промисловості та видобутку палива, потребують свого невідкладного вирішення.

1.2. ГЕМІЦЕЛЮЛОЗИ

Геміцелюлози – це група гетерогенних полімерів, що складають матрикс клітинної оболонки та відіграють основну роль у підтримці целюлозних мікрофібрил. Полісахариди матриксу синтезуються в апараті Гольджі та експортуються до оболонки екзоцитозом. Вміст геміцелюлоз в оболонці складає від 10 до 30 % сухої маси. Існує кілька типів геміцелюлоз, класифікація яких залежить від назви основного цукру, що входить до складу тієї чи іншої геміцелюлози. Основа геміцелюлоз нагадує целюлозу; геміцелюлози зв'язані із целюлозою, але вони мають розгалужену структуру. Основними типами геміцелюлоз є ксилани, ксилоглюкани, манани та змішані β -глюкани, такі, як арабіноксилани та глюкоманани (Ebringerova et al., 2005). До складу геміцелюлоз можуть входити кілька різних мономерів, таких, як маноза, арабіноза, ксилоза, галактоза, фукоза та глюкоза (рис. 1.2.1, А-С) (Sandhu et al., 2009). Деякі кислі цукри, а саме галактуронова та глюкуронова кислоти, також можуть бути складовими геміцелюлоз. В основі (хребта) полімера геміцелюлози може бути від одного до трьох мономерів. Більшість геміцелюлоз мають короткі відгалуження від основи. Відгалуження містять інші цукри, ніж в основі. Ступінь полімеризації геміцелюлоз коливається від 100 до 200 (Fengel, Wegner, 1984). До складу геміцелюлоз деревини входять гомогалактуронани, які у своїй основі мають (1-4)-зв'язану β -D-глюкозу та β -D-манозу, у молекулі є кілька гідроксильних груп та О-ацетильні групи на одну чи кілька одиниць гексози.

Ксилани – це найбільша група геміцелюлоз; їх основа складається із 1,4-з'єднаних β -D-ксилопіранозних одиниць із різними залишками цукрів, а саме арабінози, глюкози, галактози, глюкуронової кислоти, та в невеликій кількості – рамнози й галактуронової кислоти. Ксилани, включаючи ксилоглюкани, арабіноксилани, глюкуроноксилани та глюкуроноарабіноксилани, є мінорним компонентом первинних оболонок дводольних та нетрав'яних однодольних і основним компонентом геміцелюлоз у первинних оболонках злакових та вторинних оболонках дерев (рис. 1.2.1) (Sandhu et al. 2009; O'Neill, York, 2003).

Ксилоглюкани (рис. 1.2.1, А) містять в основі (1 \rightarrow 4)-зв'язані β -D-глюкопіранозні одиниці, до яких приєднані (1 \rightarrow 6)-зв'язані α -D-ксилопіранозні групи, а іноді й (1 \rightarrow 2)-зв'язані- β -D-галактозильні чи фукозильні залишки (рис. 1.2.1, А) (Sandhu et al. 2009). Ксилоглюкан знайдено в клітинних оболонках численних суходільних рослин, це основна геміцелюлоза первинних оболонок дводольних та нетрав'яних однодольних. За деякими моделями ксилоглюкани зв'язуються з мікрофібрилами целюлози поперечними зв'язками (Keegstra et al., 1973; O'Neill, York, 2003). Ксилоглюкан запобігає злипанню мікрофібрил целюлози. Показано, що саме ксилоглюкан забезпечує механічну міцність первинної оболонки. Для синтезу цієї геміцелюлози потрібна наявність ферменту ХуG-ксилотрансфераз. В арабідопсиса є сім генів, які кодують ХуG-ксилотранс-

феразу (ХХТs), два з яких (ХХТ1 та ХХТ2) можуть утворювати ксилоглюкан в умовах *in vitro* (Falk et al., 2000; 2002; Faure et al., 2007).

Основу глюкоуроноарабіноксилану (рис. 1.2.1, В) складають залишки 1,4-зв'язаної ксилози, бокові відгалуження можуть містити як залишки арабінози, так і глюкози.

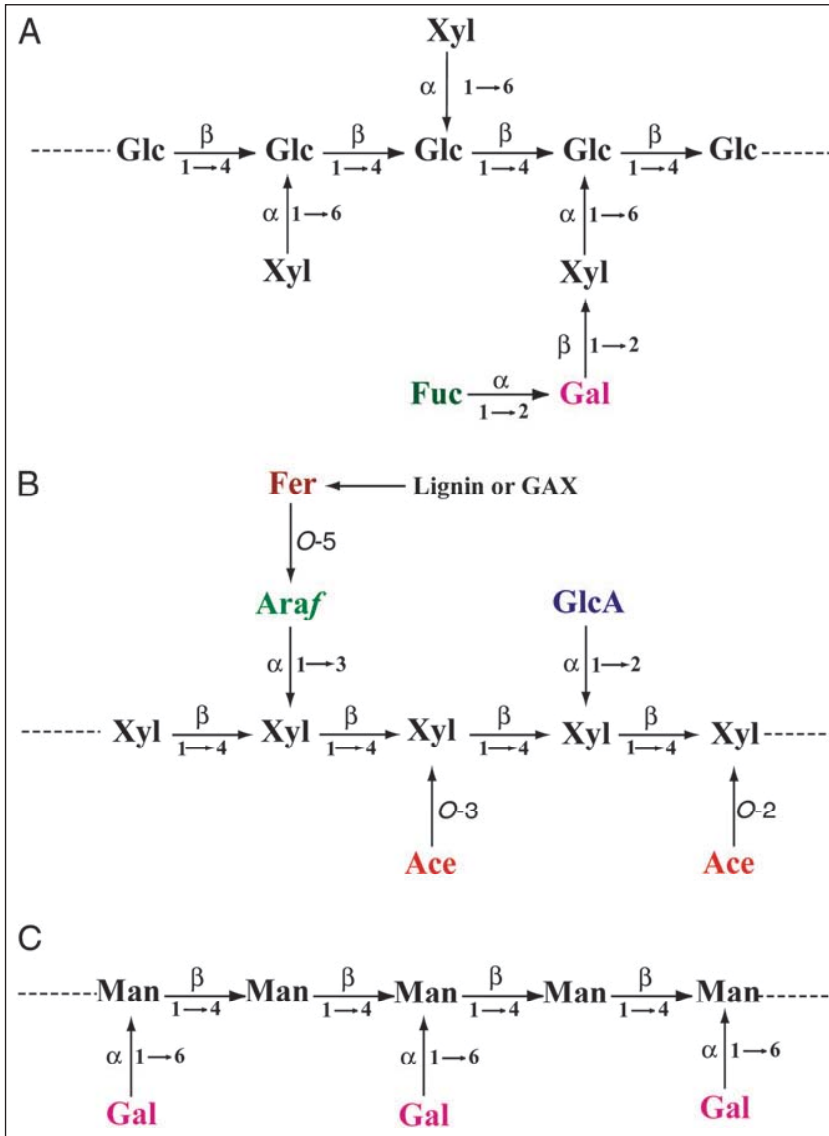


Рис. 1.2.1. Структура ксилоглюкану (А), глюкоуроноарабіноксилану (В) та галактоманану (С). Скорочення: Асе – ацетат, Аraf – арабінофураноза, Fer – ферулат, Fuc – фукоза, Gal – галактоза, Glc – глюкоза, Xyl – ксилоза, GlcA – глюкоуронат, Man – маноза (Sandhu et al., 2009)

Геміцелюлози мананового типу в основі містять 1,4-зв'язані залишки β -D-манози (рис. 1.2.1, С), а також залишки галактози й глюкози, як бокові відгалуження (Willfög *et al.* 2005). Вміст та склад геміцелюлоз залежить від виду, органу рослини та стадії її розвитку (Schadel, 2009).

Жанг зі співаторами (Zhang Si-Ju *et al.*, 2012) молекулярними методами показав зміни фенотипу рису на молекулярному рівні. Вони склали карти кількісних характеристик локуса (Quantitative trait loci, QTL), що допомогло ідентифікувати ген у певного фенотипу. Виявилося, що саме цей локус відповідає за синец геміцелюлоз, від складу якого залежать агрономічні характеристики рису, тобто механічність та гнучкість рисової стеблини. Автори показали наявність природної варіабельності запасу моносахаридів між диким видом рису та індійським культурним елітним видом рису. Хімічний аналіз виявив основні відмінності у вмісті глюкози та ксилози, що корелювало зі специфічним складом геміцелюлоз. Для геміцелюлози, а саме у β -глюкану зі змішаним зв'язком (MLG, mixed-linkage glucan), характерним є знижений вміст ксилози, і це відображає низький рівень ксиланової основи в геміцелюлозі та зміненого вмісту арабіносксиланової геміцелюлози. Для моносахаридів ідентифіковано 17 локусів у соломині рису, ці локуси відповідають за 19 та 21 % фенотипічних відмінностей складу геміцелюлози. Чотири основних локуса із сімнадцяти викликають синтез певної кількості ксилози та глюкози, відповідно фенотипу (Zhang Si-Ju *et al.*, 2012).

Згідно гіпотези Дага із співаторами гени целюлозоподібної синтетази (Cellulose Synthase Like, CSL), кодують три різні геміцелюлози. По перше, згідно транскрипційного коду для гуарового насіння, припускають, що, відкладення галактоманану відбувається відбувається за участю целюлозоподібного ферменту (із родини CSL), а саме β -1,4-манан-синтетази (Dhugga *et al.*, 2004). Пізніше Ліепман зі співаторами (Lierman *et al.*, 2005) виявили групу генів CSL у *Arabidopsis* та рису, за допомогою яких зробили скринінг активності глюкансинтетази геміцелюлоз. Вони ідентифікували білки в *Arabidopsis*, зокрема: манан- та глюкоманансинтетазу. Це підтвердило думку про те, що лише один білок CSL здатний каталізувати синтез мананів та глюкомананів, і що саме ці білки можуть використовувати субстрат-акцептор навіть нерослинного походження. Встановлено, що білки CSL локалізуються в апараті Гольджі (Dunkley *et al.*, 2006).

Крім цього, ідентифіковано гени та відповідні ферменти, що беруть участь в приєднанні цукрів до ксилоглюканової основи чи до відгалужень, наприклад, арабінозилтрансферази та фукозилтрансферази (Perrin *et al.*, 1999; Faik *et al.*, 2000; Vanzin *et al.*, 2002). Також було ідентифіковано ксилоглюкан-галактозилтрансферазу, що приєднувала галактозу на третій залишок ксилози основи геміцелюлози (Madson *et al.*, 2003). Одна із ксилоглюкан-ксилозилтрансфераз (ХТ1) була ідентифікована на основі подібності ферментативних властивостей та амінокислотних послідовностей до α -1,6-галактозилтрансферази з рослини шамбали (*Trigonella foenum-graecum*) (Edwards *et al.*, 1999; Madson *et al.*, 2003). Функція ксилоглюкан-ксилозилтрансферази – це транспорт ксилози від УДФ-ксилози на акцептор, β -1-4-глюканолігосахарид (Faik *et al.*, 2002). Таким чином, стали відомі гени целюлозосинтетазоподібного білка (CSL), що синтезує основу та бокові ланцюги геміцелюлозних полісахаридів.

1.3. ПЕКТИНИ та ОЛІГОСАХАРИНИ

Пектини – це високо гетерогенна група полімерів, що включає гомогалактуронани (HG), рамногалактуронани I та II (RG-I, RG-II), а також ксилогалатуронани (XGA), які зв'язані між собою ковалентно і відрізняються різними доменами. Пектини складають до 35% сухої маси клітинних оболонок дводольних та нетрав'яних однодольних, і до 5% – в оболонках дерев (O'Neil et al., 1990; Ridley et al., 2001). Пектини є також у оболонках голонасінних, і їх значно менше в оболонках трав'яних видів (біля 2%) (Varner, Lin, 1989).

Пектини беруть участь у рості, розвитку та захисту рослини, являються продуктами їжі, а також використовуються у медицині. В основному, пектини локалізуються в серединній пластинці, кутах клітин, в оболонках молодих клітин та клітин, які діляться, а також у м'яких тканинах. Пектин є компонентом оболонок не тільки покритонасінних рослин, він також присутній в оболонках клітин мохів, папоротей, харових водоростей (O'Neil et al., 2004). Більший вміст пектину спостерігається у вторинних оболонках рослин, що ростуть угору й в яких багато лігніну (Matsunaga et al., 2004). Полімеризація пектинів відбувається в апараті Гольджі, метилетерифікація – у медіальній частині диктіосом, заміщення бокових ланцюгів – у транспортуючих везикулах Гольджі. Пектини секретуються в клітинні оболонки в метилетерифікованій формі. Тобто, потім вони можуть модифікуватися за допомогою ферментів, зокрема, 67 трансфераз (пектинметилестерази, PME), що каталізують деметилетерифікацію гомогалатуронанів з вивільненням кислих пектинів та метанолу. Трансферази пектинів включають глюкозил-, метил- та ацетилтрансферази.

Функції пектину. Доведено роль пектину в рості, розвитку, морфогенезі, захисту рослини, злитті клітин, формуванні пористості оболонок, сигналізації, у дії факторів росту, обводненні насіння, розвитку плодів (Ridley et al., 2001; Willats et al., 2001; Jarvis, 1984), у формуванні аеренхіми в коренях (Gunawardena et al., 2001), а також у зв'язуванні іонів кальцію та інших іонів з вільними карбоксильними групами (Grant et al., 1973). Пектин у харчовій промисловості використовується для приготування желе, у медицині – у ліках для зниження холестерину та для інгібування росту пухлин (Jackson et al., 2007).

Структура пектину. Пектин – це родина ковалентно зв'язаних полісахаридів, що збагачені галактуроновою кислотою (Albersheim, et al., 1996), яка складає до 70% всього пектину. Залишки галактуронової кислоти зв'язуються в положенні O-1 та O-4.

Гомогалактуронан (HG) – є складовою пектину, це лінійний полімер C-1,4-зв'язаної галактуронової кислоти, вміст якого досягає 65% пектину (рис. 1.3.1, а). HG – є частково метилестерифікованим полісахаридом, він утворює складний ефір при C-6 карбоксилі, а також може бути O-ацетильованим при O-2 чи O-3. Крім того, він може містити й інші потенційно зв'язані ефіри невизначеної структури (Jackson et al., 2007;

Рамногалактуронан II (RG-II). Гомогалактуронан у пектині може частково замінюватися на рамногалактуронан II (RG-II), вміст якого може становити до 10 % від усього пектину (O'Neil et al., 2004) (рис. 1.3.1, b). Його структура досить консервативна й містить у основі гомогалактуронану до восьми (іноді й більше) залишків 1,4-зв'язаних α -D-GalA (галактуронової кислоти), що може розгалужуватися й мати від 12 до 20 різних цукрів. RG-II, за звичай, міститься в оболонках як димер, і може включати інші складові, наприклад, борний ди-ефір, який розташовується між епіозилловими залишками в мономері (O'Neil et al., 2004; Matsunaga et al., 2004).

Гомогалактуронани в пектині також можуть замінюватися іншими складовими, а саме: галактуронанами, ксилогалактуронанами (XGA) та апіогалактуронанами (AP), які рідше зустрічаються є більш обмеженими в замінах. XGA замінюються при патогенезі тканин, тоді як заміна на AP відбувається в репродуктивних тканинах, у листках і стеблах арабідопсиса (Zandieven et al., 2007) та в листках однодольних водних рослин, таких, як *Lemna* (Mohnen, 2008).

Рамногалактуронан I (RG-I). Вміст рамногалактуронана I в пектині коливається від 20 до 35 %. Він складає основу повторень ланцюга дисахариду [$-\alpha$ -D -GalA-1,2- α -L-Rha-1,-4-]_n (рис. 1.3.1, c), до його основи можуть приєднуватися численні цукри, олігосахариди та розгалужені олігосахариди (Giullemin et al., 2005; Willats et al., 2001). У молекулі основи цього полісахариду може бути від 20 до 80 % лінійних чи розгалужених залишків α -D -Araf та β -D Galp, Крім того, до розгалужень можуть приєднуватися залишки арабінози, чи арабінану з високим ступенем полімеризації (Mohnen, 2002), там можуть кріпитися й залишки глюкози та фукози (O'Neil et al., 2003).

Моделі зв'язку. Більшість дослідників вважають, що пектинові полісахариди зв'язуються ковалентно поперечними зв'язками, до цього висновку автори прийшли після застосування грубої обробки чи обробки ферментами, після яких ізолюються окремі складові: HG, RG-I та RG- II (Nakamura et al., 2002; Ishii, Matsunaga, 2001). Існує кілька моделей їхнього зв'язку. Згідно моделі, представленої на рис. 1.3.2 (Mohnen, 2008), складові HG, RG-I та RG-II зв'язуються між собою в основі, причому зв'язки між ними є ковалентними, там можуть бути й інші полісахариди, включаючи ксилоглюкани та ксилани. За іншою моделлю, залишки ксилози прикріплюються до геміцелюлози ксилоглюкану (Nakamura et al., 2002, a; 2002, b).

Біосинтез пектину. Імуноцитохімічними методами встановлено, що пектини синтезуються в апараті Гольджі й транспортуються у везикулах Гольджі до цитоплазматичної мембрани. Синтез пектину відбувається одночасно в численних диктіосомах Гольджі. У цьому беруть участь ферменти; пектини виділяються на цис- та транс-полюсах цистерн Гольджі (Nebenfuhr, Staehelin, 2001), везикули Гольджі транспортуються вздовж актинових філаментів, що мають міозиновий двигун (Nebenfuhr et al. 1999). В апараті Гольджі локалізована глюкозилтрансфераза (GT), що переносить залишки глюкози від нуклеотид-цукрів на акцептори олігосахариду чи полісахариду. Проте не ясно, яким чином синтез пектину починається, які білкові чи ліпідні донори беруть участь у цьому про-

цесі (Cumming et al., 2005; Abdel-Massih et al., 2003). Під час синтезу пектину залишки пектинових глюкозидів модифікуються за допомогою метилтрансфераз, а саме: відбувається етерифікація чи *O*-метилування; за допомогою іншого ферменту, ацетилтрансферази, проходить ацетилювання пектинів, і за участю ферулолтрансферази – ферулювання пектину. Субстратами для таких модифікацій є *S*-аденозилметионін (SAM), ацетил CoA та ферулол CoA, відповідно.

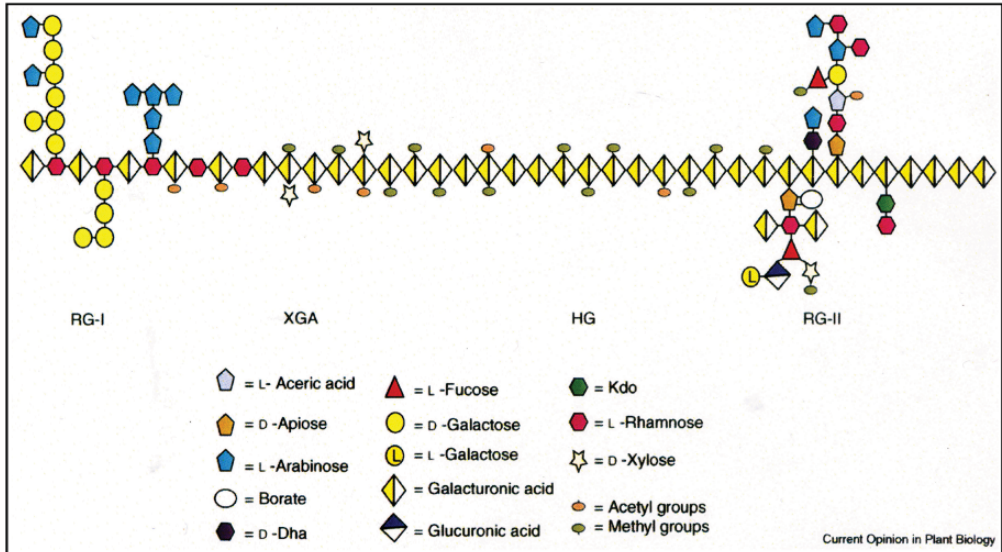


Рисунок 1.3.2. Схематична модель зв'язку чотирьох петинових полісахаридів: гомогалактуронану (HG), ксилогалактуронану (XGA), рамногалактуронану I (RG-I) та рамногалактуронану II (RG-II), які зв'язані один із одним. Представлена структура пектину не є кількісною (Mohnen, 2008).

На сьогодні ідентифіковано гени, що залучені до синтезу ферментів, які беруть участь у метаболізмі пектину (Reiter, Vanzin, 2001; Seifert, 2004; Gu, Bar-Peled, 2004; Pattathil et al., 2005). Виявлено 67 глюкозилтрансфераз, метилтрансфераз та ацетилтрансфераз (Mohnen, 2008), що беруть участь у синтезі пектинів. Розглянемо деякі з них. Встановлено, що мембраннозв'язана α -1,4-галактозилтрансфераза транспортує галактуронову кислоту (GalA) від UDP- α -D-GalA до нередукованого кінця полісахариду гомогалактуронану або ж до олігосахаридного рецептора. Крім цього, встановлено, що α -D-1,3-ксилозилтрансферази (xylosyltransferases RGXT1 (*At4g01770*) та RGXT2 (*At4g01750*) транспортують ксилозу від УДФ- α -D-ксилози до фукози (Egelund et al., 2006).

Недавно ідентифіковано гени арабідопсиса (*At4g01770* та *At4g01750*), які відповідають за синтез ферментів, що беруть участь у синтезі рамногалактуронанів та гомогалактуронанів, а саме, RG-II: α -1,3-ксилозилтрансферази (RG-II: α -1,3XylT): *RGXT1* та

RGXT2; *GAUT1 At3g61130*, *HG:GalAT* (Egelund et al., 2006), а також гени, що кодують глюкозилтрансферазу (ацетил- та метилтрансферази), зокрема: *XGD1 At5g33290* та *XGA:ХуІТ*. Крім цього, ще було ідентифіковано ген ферменту ксилогалактуранан: ксилозилтрансферази (*XGA:ХуІТ*): *XGD1* (Mohnen, 2008).

Також ідентифіковано метилтрансферази (HG–methyltransferase (HG–MT), які каталізують реакцію перетворення GalA в HG (Derbyshire et al., 2007). Таким чином, ідентифіковано чотири глюкозилтрансферази, які зулучені до синтезу HG, XGA, та RG-II.

Не дивлячись на це, на сьогодні лишаються відкритими питання: яким чином і де відбувається поперечне зв'язування пектинових полісахаридів, в чому полягає відмінність пектинів різних тканин.

Олігосахарини

Олігосахарини – новий клас регуляторних молекул клітин, які мають потенційну біологічну активність. Їх знаходять у клітинних оболонках вищих рослин при захисній реакції рослини на біотичні та абіотичні чинники. Олігосахарини одержані з фрагментів пектинів (рамногалактуранів I та II) і/або ксилоглюканів оболонки. Вони представлені простим ланцюжком молекул галактуранової кислоти. Олігогалактуронід ідує синтез іРНК на матриці ДНК генів, які кодують відповідні ферменти синтезу антибіотика, тобто цей олігосахарин регулює експресію відповідних генів (Albersheim, Darvill, 1985; Darvill et al., 1985).

Показано, що олігосахарини, одержані з оболонки клітин явора (у культурі), інгібують цвітіння *Lemna gibba*, а олігосахарини, ізольовані із ксилоглюкана, інгібують індукований 2,4-Д ріст епікотилля гороху (York et al., 1984). Олігосахарини можуть також моделювати вплив ауксину або ж пригнічувати пазушний ріст рослин, модифікувати органогенез у культурі тканини, викликати загибель клітин або ж інгібувати цвітіння, стимулювати вегетативне брунькування експлантатів рослин (Albersheim, Darvill, 1985).

Для одержання олігосахаринів використовують ферментативно-кислотний або ферментативно-лужний гідроліз певної фракції оболонки. С. Фрай (Fry, 1986) виділив наносахарид (XG9) при обробці ксилоглюкану оболонки суспензійних клітин шпинату целюлазою, визначив структуру XG9 і показав, що він має антиауксинову активність. Також встановлено, що культуральний фільтрат містив XG9, тобто наносахарид міг виходити із оболонки і накопичуватись в середовищі росту (York et al., 1984).

Виділено олігосахарини, активні форми яких стимулюють синтез екстенсину, лігніну та білків, які зв'язані з патогенезом (PR-білки) у рослинній клітині, й активують утворення інгібіторів протеїнази (Darvill et al., 1985; Ryan, 1988). З клітинної оболонки культури явора й кукурудзи виділено олігосахарини, які викликають загибель клітин явора й кукурудзи (Albersheim, Darvill, 1985) і інгібують ауксин-індукований ріст клітин (York et al., 1984).

Фрагменти олігосахарину також виділено із суспензійних клітин платану при обробці ендο-β-(1-4)-глюканазою. Методом гель-електрофорезу одержано дві фракції: перша, збагачена наноолігосахаринами, і друга, збагачена гептасахаринами з відомою структу-

рою (Baeyer, et al., 1973). Фракція наносахариду відрізнялась від фракції гептаполісахариду наявністю L-фукозил 1- 2-D-галактозил дисахариду, який приєднаний до 0-2-ксилозил гептасахариду. Наносахаридна фракція в концентрації 10^{-7} М інгібує на 70 – 90 % ріст епікотилів гороху, який індукується 2,4-Д. Фракція гептосахаридного ксилоглюкана лише частково інгібує ріст тканин у тій же концентрації, як і наносахарид. Як припускають дослідники (York et al., 1984), інгібуюча властивість фракцій наносахариду швидше була токсичною, ніж інгібуючою для тканин гороху.

1.4. БІЛКИ ОБОЛОНКИ

У клітинних оболонках рослин є п'ять основних класів білків (табл. 1.4.1) (Clarke et al., 1979; Allen, 1983; Fincher et al., 1983; Showalter, Rumeau, 1990; Showalter, 1993):

- 1- екстенсини,
- 2- білки, збагачені гліцином (GRPs, glicin rich proteins),
- 3- білки, збагачені проліном (PRPs, prolin-rich proteins),
- 4- пасльонові (solanaceous) лектини,
- 5- арабіногалактанові білки (AGPs, arabinogalactan proteins).

Ці білки можуть бути зв'язані один з одним, оскільки усі вони, за виключенням білків, збагачених гліцином, містять гідроксипролін, а GRPs має амінокислотну послідовність, близьку до такої у екстенсина. Крім цих білків, в оболонках є багато ферментів та ін. білків: тіоніни, збагачені цистеїном; 28- та 70 Кда—білки, які регулюються водою; ферменти: пероксидази, фосфатази, інвертази, α -манозидази, β -манозидази, β -1,3-глюканази, β -1,4-глюканази, полігалактуроази, пектинметилестерази, малатдегідрогенази, арабінозидази, β -галактозидази, β -глюкоуронідази, β -ксилозидази, протеази, оксидази аскорбінової кислоти (Varner, Lin 1989). Кожний клас білків досліджувався на кількох видах.

1.4.1. Екстенсини. Екстенсини – це родина глікобілків, збагачених гідроксипроліном. У дводольних екстенсини збагачені не тільки гідроксипроліном, але й серином, там також зустрічаються комбінації таких амінокислот, як валіну, тирозину, лізину та гістидину (Stuart, Varner, 1980; Kawasaki 1991). Недавно був охарактеризований екстенсин цукрового буряка (Li et al., 1990), фрагменти послідовностей якого були подібні та послідовностей екстенсину в томатів, моркви, тютюну та петунії. Цей екстенсин не мав повторностей пентапептиду Ser-Hyp4, але містив повторності Ser-Hyp2-[X]-Hyp2-Thr-Hyp-Val-Tyr-Lys, де [X] – це Val-His-Glut-Lys-Tyr-Pro вставки послідовностей. В однодольних, а саме у трав'янистих однодольних (зокрема, у кукурузи), є білок екстенсин, який відрізняється від типового екстенсину наявністю треонін-гідроксипролінзбагаченого глікобілка (THRGP) та наявністю глікопротеїну, збагаченого гістидин-гідроксипроліном (HHRGP), в якому дуже багато аланіну (Kieliszewski, Lamport, 1988). THRGP є характерним для

обох білків (Kieliszewski, Lamport, 1987; Kieliszewski et al., 1992). Молекулярні дослідження показали, що THRGP відрізняється від типового екстенсину дводольних, в якому багато треоніну та проліну, як додатків до гідроксиполіну, лізину та серину, там же виявили два фрагменти з наступними послідовностями амінокислот:

Thr-Pro-Lys-Pro-Thr-Hyp-Hyp-Thr-Tyr-Thr-Hyp-Ser-Hyp-Lys-Pro-Hyp та Ala-Thr-I-Ser-Lys-Pro-Pro, але тільки з одним залишком Ser-Hyp (Stiefel et al., 1988). THRGP також виявлено у сорго, рису; послідовність цього білку схожа на таку у кукурудзи (Raz et al., 1991; Caelles et al., 1992). Голонасінні також містять цей білок (Kieliszewski et al., 1992). Виявлено, що білок THRGP в деревині ладанної сосни має 24 % проліну та 11 % гідроксиполіну (Bao et al., 1992). Білок HRGPs міститься також у клітинних оболонках вегетативних клітин та гамет зеленої водорості *Chlamydomonas* (Adair, Snell, 1990).

Регуляція білка екстенсину. Різні умови та різноманітні обробки клітин приводять до експресії генів екстенсину (Showalter, Rumeau, 1990; Showalter et al., 1991) (табл. 1.4.1.1). Роботи по експресії екстенсину в основному проведені на трав'янистих дводольних, деяких однодольних (кукурудзі) (Stiefel et al., 1988; Fritz et al., 1991; Rmuiz-Avilla et al., 1991), а також на клітинах водоростей *Chlamydomonas sp.* та *Volvox sp.* (Woessner, Goodenough, 1989; Adair, Snell, 1990; Ertl et al., 1992).

ТАБЛИЦЯ 1.4.1.1. **Регуляція експресії п'яти основних класів білків клітинних оболонок рослин** (Showalter, Rumeau, 1990)

| Білок/рослина | Умови експресії білка |
|--|--|
| Екстенсин (дводольні) | При пораненні, грибна інфекція, вірусна інфекція, дія грибних елісаторів, дія етилену та червоного світла |
| Екстенсин (одnodольні) | При пораненні, під час розвитку |
| Екстенсин (<i>Chlamydomonas</i>) | Під час розвитку |
| Екстенсин (<i>Volvox</i>) | Під час розвитку |
| Білки, збагачені гліцином (дводольні) | Під час розвитку, при вірусному інфікуванні, дії саліцилової та абсцизової кислот, при посуші та пораненні |
| Білки, збагачені гліцином (одnodольні) | Під час розвитку, при водному стресі, дії абсцизової кислоти та хлориду ртуті, при пораненні |

Продовження табл. 1.4.1.1.

| Білок/рослина | Умови експресії білка |
|---------------------------|--|
| Білки, збагачені гліцином | При пораненні, дії ендогенних елісаторів, грибних елісаторів, етилену, при культивуванні клітин у культурі, при освітленні та дії червоного світла, а також під час розвитку рослини |
| Білки, збагачені гліцином | Під час розвитку рослин та при бульбашковому бактеріозі |
| Пасльонові лектини | При пораненні та при вірусному інфікуванні |
| Арабіногалактанові білки | Під час розвитку рослини та при пораненні, тепловому шоці, дії гравітації, впливі глутатіону, при культивуванні клітин <i>in vitro</i> |

Молекулярними методами виявлено, що гени екстенсину зв'язані із тканинами флоєми та клітинами камбію, але можуть бути й в інших тканинах. Це було показано на трансгенних рослинах при використанні експресії GUS.

Яким чином відбувається зв'язування білка екстенсину з іншими структурами оболонки? Екстенсини можуть поперечно зв'язуватися міжмолекулярними дифенілефірними зв'язками з тирозином (Epstein, Lamport, 1984). Екстенсин може також ковалентно зв'язуватися з вуглеводами оболонки. Крім того, екстенсин може закорюватися іонними зв'язками з пектинами: в екстенсині є залишки лізину та гістидину, які можуть бути кандидатами для іонних зв'язків, саме такі зв'язки регулюють зміни рН та вміст іонів Ca^{++} в оболонці. Функції екстенсинів не повністю з'ясовано. Вони можуть брати участь у захисті рослини від дії патогенів, при пораненні; екстенсин інтенсивно відкладається в оболонках, не пропускаючи патогени в клітину (Leach et al., 1982).

1.4.2. Білки, збагачені лейцином

Структура. GRPs – це новий клас рослинних білків, для яких характерним є періодична повторність первинних структур, які містять до 70% гліцину, і побудовані з коротких амінокислотних залишків. Перший ген GRP був ізольований дослідниками, які вивчали дію ДНК вірусу Епштейна-Барра з петунії (Condit, Meagher, 1986). Цей білок містив 67 % гліцину, складався з повторних фрагментів Gly-X (де X – це частота гліцину), або там могли бути Ala чи Ser. Дослідження покриву насіння гарбуза показало, що білок GRP містить 47 % гліцину (Varner, Cassab, 1986), на основі чого автори припустили, що GRPs – це білки клітинних

оболонок, які подібні до такого ж білка петунії. Білок з оболонки гарбуза містив 58 % гліцину, у білка були повтори Gly-X одиниць (Keller et al., 1988).

Інша група вчених охарактеризувала ДНК та гени білка GRP із томатів (Showalter et al., 1991), *Arabidopsis* (de Oliveira et al., 1990), петунії (Linthorst et al., 1990), тютюну (van Kan et al., 1988) та моркви (Sturm, 1992). Особливістю білка у всіх досліджуваних видів була наявність аміно-термінального сигнального пептиду.

Гени, що кодують цей білок виділені не тільки із дводольних, але й із однодольних рослин: кукурудзи (Gómez et al., 1988), рису (Mundy, Chua, 1988), та ячменю (Rohde et al., 1990). У кукурудзи цей білок містить 37 % гліцину та повтори амінокислотних послідовностей Gly-Gly-Тур-Gly-Gly та Arg-Arg-Glu. У GRP рису міститься 25 % гліцину, але відсутні повторності подібні до білка ячменю.

Цікавим є той факт, що білок GRP, який виявлено у рисі, кодує сигнальний пептид та є зрілим білком, що має 67 % гліцину (Lei, Wu, 1991). Подібні сигнальні пептиди виявлено також у ячменя та сорго (Mortenson, Dreyfuss, 1989).

Регуляція експресії GRPs. GRPs – білки, які подібно до екстенсину, експресуються за таких же умов у клітинних оболонках дводольних, зокрема, при стресах та під час розвитку рослини (Keller et al., 1988; van Kan et al., 1988; Condit et al., 1990; de Oliveira et al., 1990; Linthorst et al., 1990) (див. табл. 1.4.1.1).

Аналогічно відбувається експресія цього білка в однодольних (Gómez et al., 1988; Mundy, Chua, 1988; Lei, Wu, 1991). У дводольних GRPs білки локалізуються в провідних тканинах, зокрема, у ксилемних елементах, які зв'язані з лігніфікацією; вони також можуть локалізуватися й в епідермальних клітинах зародкових листків та в епідермісцитках зародка (Gómez et al., 1988).

Внутрішньомолекулярні зв'язки та функції GRPs. Існує два класи GRPs. Перший клас цих білків присутній в оболонках, а другий – у цитоплазмі, де регулюється при стресах, включаючи дію посухи та АБК. GRPs клітинних оболонки є структурними білками, які синтезуються при пораненні клітин та в клітинах провідних систем. Ці білки в оболонках утворюють численні антипаралельні пучки, забезпечуючи еластичність та розтягування оболонки при лігніфікації, що, очевидно, відбувається завдяки наявності залишків тирозину, які пов'язані з реакцією оксидативної полімеризації при синтезі лігніну (Keller et al., 1989). Тоді ж другий клас GRPs, клас цитоплазматичних білків GRPs, відновлює клітини після дії посухи чи поранення. Відновлюючі білки (екстенсин-GRP) зв'язуються з іншими білками оболонки поперечними зв'язками, а також зв'язуються і з лігніном. Відмічено, що тирозинові залишки екстенсин-GRP можуть зв'язуватися ковалентно з коніфероловим спиртом за участю пероксидази (Whitmore, 1978). Показано, що гліцинові залишки локалізовані в кластерах білка.

1.4.3. Білки, збагачені проліном

Структура. PRPs – це клас білків, які також можуть містити гідроксипролін. Ці білки ділять на два підкласи: 1- це звичайний компонент клітинної оболонки (Chen, Varner, 1985; Sheng et al., 1991), і 2ий клас – це білки, які починають синтезуватися в оболонках лише за умов інфікування рослини азот-фіксуєчими – бульбашковими бактеріями (Dickstein et al., 1988; Scheres et al., 1990). Обидва підкласи цих білків характеризуються наявністю повторів Pro-Pro. Наприклад, звичайний білок клітинних оболонок (PRPs), та PRPs білок, що індукується бульбашковими бактеріями, характеризуються наявністю повторів пентапептидних залишків Pro-Pro-X-Y-Lys, де X та Y можуть бути валіном, тирозином, гістидином, чи глутаміновою кислотою. У таких випадках, у повторах є допоміжні залишки проліну. Такі білки характеризуються еквімолярним вмістом проліну та гідроксипроліну (Averyhart-Fullard et al., 1988; Datta et al., 1989). Аналіз амінокислотної послідовності показує, що гідроксипролін такого білка у сої містить пентапептидні повторності (тобто Pro-Нур-X-Y-Lys) (Lindstrom, Vodkin, 1991), тоді як у голонасінних є два гексапептиди із наступними повторностями Pro-Нур-Нур-Val-Tyr-Lys та Pro-Pro-НурVal-Val-Lys, відповідно (Kieliszewski et al., 1992).

Недавно ідентифіковано ген білка PRP. У клітинах зародка кукурудзи білок PRP має на N-термінальному кінці домен, збагачений проліном з численними повторностями Pro-Pro-Tyr-Val та Pro-Pro-Thr-Pro-Arg-Pro-Ser, а на гідрофобному C-кінці містить домен, у якого значно менше проліну і Cys. Такі домени характерні для цього білка у однодольних (Jose-Estanyol et al., 1992). Так у кукурудзи PRP має на N-кінці домен, який за будовою подібний до такого у дводольних, зокрема, у гороху (Sheng et al., 1991) або ж у томату (Salts et al., 1991).

Регуляція експресії PRPs. Білки PRPs залучено до різних фаз розвитку рослини та формування бульбашок на кореневій системі (див. огляди: Showalter, Rumeau, 1990; Scheres et al., 1990; Jose-Estanyol et al., 1992). При поранні та дії ендогенних або ж грибних еліситорів, дії етилену, при культивуванні тканин *in vitro* чи при освітленні спостерігається експресія генів PRPs (Tierney et al., 1988; Marcus et al., 1991). Відома ціла родина генів PRPs, що специфічна для певних тканин та клітин.

Міжмолекулярні зв'язки та функції PRPs. Подібно до екстенсинів та GRPs білків, білки, збагачені проліном, є нерозчинними в оболонці. Ці білки, завдяки високому вмісту тирозину та кислого пектину, зв'язуються із GRPs білками іонними зв'язками, очевидно, це відбувається за участю ізотирозину та кислих пектинів, що розміщуються поруч. Вони присутні і при лігніфікації клітин; припускають, що білки, збагачені проліном беруть участь в лігніфікації клітин (Ye, Varner, 1991).

PRPs можуть відігравати значну роль у формуванні бульбашкових біктерій, хоча функція цих білків лишається невідомою. Інгібіторним аналізом встановлено, що фер-

мент пептидил-пролінгідроксилаза знижує клітинний ріст у культурі (Schmidt et al., 1991) або ж інгібує ділення клітин. Базуючись на даних про експресію білків, що зв'язані із бульбашковими бактеріями, показано участь цих білків у формуванні азот-фіксуючих бактерій у бульбашках на кореневій системі бобових (van de Wiel et al., 1990).

1.4.4. Пасльонові лектини

Структура. Лектини – це білки, що зв'язують вуглеводи; ці білки походять від глікобілків. Пасльонові лектини – це цілий клас рослинних лектинів, які відрізняються від інших лектинів обмеженим розповсюдженням (тільки у пасльонових) та їхньою здатністю аглютинувати олігомер N-ацетилглюкозамін. Вони мають особливий склад, в якому гідроксипролін та арабіноза є основними складовими (Allen, 1983; Showalter, Varner, 1989). Лектини картоплі (PTL, Potato tuber lectin) є найбільш дослідженими лектинами з родини пасльонових лектинів. Цей глікобілок із мономерною молекулярною масою 50 кДа складається з 50 % вуглеводів та 50 % білку від сухої маси (Allen, Neuberger, 1973; Allen et al., 1978; Matsumoto et al., 1983). Вуглеводна компонента складається із три- та тетраарабіноз, які зв'язані з гідроксипроліном, там може бути присутньою невелика кількість галактози, зв'язаної із серином (Ashford et al., 1982). Білкова частина цих лектинів багата на чотири амінокислоти: гідроксипролін, серин, гліцин та цистеїн (Allen et al., 1978), співвідношення яких залежить від виду (Ashford et al., 1982). Наявність таких амінокислот показала близькість до вмісту білків HRGPs. Це, очевидно, відображає еволюційний зв'язок між двома класами білків. Так повтори Ser-Hyp у пентапептиді є характерними як для екстенсинів дводольних, так і для збагачених серингідроксипроліном пептидів у доменах лектинів як картоплі, так і інших пасльонових.

Регуляція експресії, міжмолекулярні зв'язки та функції лектинів. Експресія лектинів спостерігається у бульбах картоплі при її пораненні (Casalongué, Lezica, 1985), а також при інфікуванні вірусом (Scheggia et al., 1988). Так як пасльонові лектини локалізуються в клітинних оболонках, то цим вони близькі до екстенсинів численних дводольних. Проте вони містять менше тирозину та лізину, ніж екстенсини дводольних. Збагачені гліцин-цистеїном домени зв'язуються з іншими компонентами оболонки. Хоча фізіологічна роль таких лектинів повністю не з'ясована. Припускають, що лектини здатні до зв'язування цукрів. Можливо, що лектини відіграють певну роль у міжклітинних зв'язках, сприяючи транспорту цукрів, стабілізації запасних білків у насінні, а також контролю клітинного ділення. Лектини можуть бути залучені в реакцію захисту клітини при пораненні та при дії патогенів (Allen, 1983; Allen et al., 1978; Matsumoto et al., 1983).

1.4.5. Арабіногалактанові білки

AGPs є білками HRGPs, вони розчинні та гідроґлікозильовані (Fincher et al., 1983; Showalter, Varner, 1989). AGPs широко розповсюджені в природі, їхня вага складає від 2 до 10 % загальної ваги білків. Їхня молекулярна вага різна, і залежить від ступеня ґлікозування. Такі білки багаті на гідроксипролін, серин, аланін, тіонін та ґліцин; вони стійкі до протеолізу в природному стані. Послідовність на N-кінці відрізняється залежно від виду: три повтори у моркви, один – у райграса, але всі вони містять Ala-Нур (Gleeson et al., 1985). Вуглеводи входять до більшості арабіногалактанових білків, це може бути галактоза та L-арабіноза. Ці вуглеводи можуть бути зв'язані з арабіногалактановими білками (1-3), зв'язаними із залишком р-D-галактопіранози або ж розгалуженими залишками (1-6), приєднаними до ланцюга арабінофуранози, і лише зрідка можуть зв'язуватися із моносахарами (Fincher et al., 1983). Клітини в суспензійній культурі виділяють ці білки із власних оболонок у оточуюче культуральне середовище. Клітини, що виділяють смоляний ексудат із клітинних оболонок, містять багато арабіногалактанових білків (Clarke et al., 1979). Ці білки можуть зв'язуватися із плазмалею, і такі білки деякі автори відносять до р-лектинів (Norman et al., 1990). Показано, що 4 % цих білків міститься в поліпролінових фрагментах (van Holst, Fincher, 1984). Вважають, що ці білки характеризуються низькою в'язкістю, мають сфероїдну форму й прикріплені в кількох місцях до білкового центру (Fincher et al., 1983).

Регуляція експресії та функції білків AGPs. Функції арабіногалактанових білків до кінця не з'ясовані. Базуючись на даних, що ці білки знаходять поза клітиною в поживному середовищі (у культуральній суспензії), можна припустити, що вони діють як глей, мастильний або ж змочуючий матеріал (Fincher et al., 1983). В основному вони локалізуються в серединній пластинці або ж у серцевині кореневих бульбашок (Cassab, 1986), що робить ці білки кандидатами на роль рецепторів у пізнанні клітиною інших клітин. У результаті цього, можлива роль арабіногалактанових білків полягає у регуляції розвитку за участю плазмалеми (у квітів, зародків, коренів) (Pennell, Roberts, 1990; Knox et al., 1991; Pennell et al., 1991); вони відіграють певну роль в ґістогенезі квітів, а, можливо, і в диференціації клітин.

Арабіногалактанові білки діють як молекули злиття та злипання за аналогією молекул лігандів, що відіграють суттєву роль у злипанні клітин ссавців (Pennell et al., 1991). Герман та Лемб (Herman, Lamb, 1992) показали, що ці білки локалізуються у похідних плазмалеми, мультивезикулярних тільцях, а також у порожнині вакуолі. Припускають, що вони можуть залучатися до процесу ендоцитозу (від периплазматичного матриксу до вакуолі).

1.5. СУБЕРИН, КУТИН, ВІСК І ЛІГНІН

1.5.1. Суберин

При диференціації рослинних клітин їхні оболонки синтезують інкрустаційні речовини, які, включаючись в оболонку, змінюють механічні та хімічні властивості всієї оболонки, або ж лише певних її ділянок. До них входять кутин, суберин, лігнін, калоза, сполуки кальцію та кремнію. Явище включення суберину та кутину носить назву корковіння та кутинізації, які властиві диференційованим тканинам кореня та листків.

У тканинах підземних органів, зокрема, у клітинних оболонках перидерми коренів утворюється субериновий шар, що захищає тканини від дифузії вологи. Виявлено, що суберин також синтезується й у клітинних оболонках надземних органів.

Суберин — це комплексний біополімер, який у своєму складі має поліаліфатичні (аліфатичний суберин) та поліароматичні домени (Kolattukudy, 2001; Pollard et al., 2008). При етерифікації аліфатичного суберину в його складі виявлено ω -гідроксикислоти, дикислоти, жирні кислоти, первинні спирти, гліцерин та невелика кількість гідроксишамінових кислот, в основному ферулової кислоти, що зв'язуються неефірними зв'язками (Graca, Pereira, 2000). Поліароматичний домен являє собою лігніноподібний полімер, що в основному складається з гідроксишамінових кислот (Bernards and Razem, 2001).

Серед компонентів суберину є мононенасичені C18-мономери, насичені α, ω —дикислоти (C18, C20, C24, C26), алкани (C18-C26) та алканові кислоти (C16-C22 та C23-C30) (Kolattukudy, Espelie, 1981; Kolattukudy, 1984; Serra et al., 2010). Аліфатичні компоненти суберину містять дуже довгі ланцюги жирних кислот та спиртів, які, як вважає Колатукуді (Kolattukudy, 1984), скоріше за все, є мінорними компонентами кутину.

Проте молекулярна будова молекули суберину залишається поки лише гіпотетичною схемою (Pollard et al., 2008), хоча й запропоновані деякі моделі будови суберину (Graca, Santos, 2007), які допускають важливу роль зв'язку ферулових ефірів із доменами аліфатичного чи поліароматичного суберину та з полісахаридами (Pollard et al., 2008; Graca, 2009).

Молекулярно-генетичні дослідження рослин *Arabidopsis* та картоплі показали залучення дегідрогенази ω -гідроксизірної кислоти (Cottle, Kolattukudy, 1982), ацетилтрансферази, ω -гідроксилази, 3-кетоацил-КоА синтетази (KCS – для росту жирних кислот) та цитохром P450 оксигенази (для гідроксилування жирних кислот) у процесі біосинтезу суберину, зокрема, у подовженні росту його молекул (Serra et al., 2009, a; 2009, b). Родина рослинних трансфераз, зокрема, чотири білка: бензил алкоголь ацетилтрансфераза (BEAT), антоціанін-О-гідроксишамілтрансфераза (АНСТ), антранілат-N-гідроксишаміл/

бензилтрансфераза (НСВТ) та диацетилвіндолін-4-О-ацетилтрансфераза (DAT) здатні каталізувати аліфатичну ферулізацію, використовуючи ефіри гідроксишамілу КоА в якості донорів. Крім цього, описано гени, які кодуєть деякі ферменти синтезу суберину. Пізніше був виявлений ген, що кодує фермент FHT (ω -жирну гідроксильову кислоту/жирну алькоголь гідроксишамілтрансферазу), який виявлено в перидермі бульб картоплі, що синтезували суберин (Serra et al., 2010).

Воски, що включені в суберин є суміш гідрофобних компонентів. Комплекс суберин-віск відкладається між первинною клітинною оболонкою та плазмалемою, і часто цей шар під електронним мікроскопом має вид світлої чи темної ламели (рис. 1.5.1.1.) (Schmidt, Schonherr, 1982; Serra et al., 2010). Припускають, що світла ламела зв'язана з ароматичними компонентами суберину (Schmutz et al., 1993, 1996; Graca, Santos, 2007). Суберин маючи ламелярну структуру, може складатися з одного чи кількох шарів (Sitte 1962; Kolattukudy, 1980).

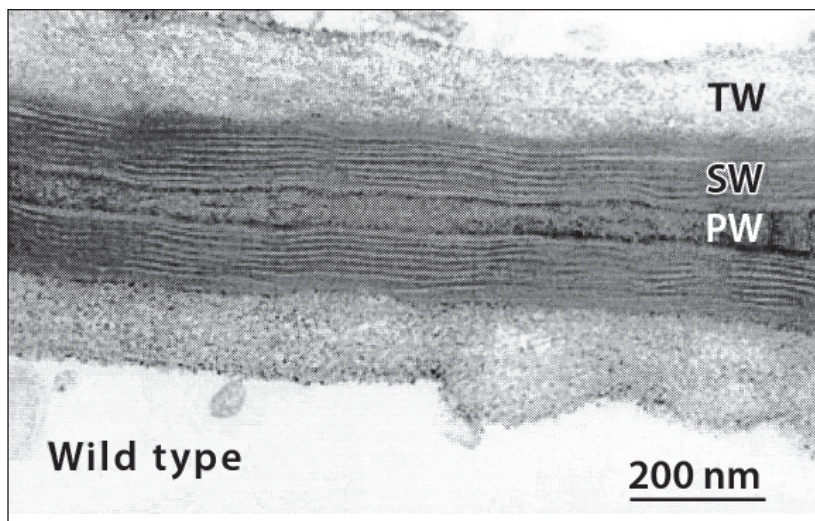


Рис. 1.5.1.1. Фрагмент клітинної оболонки бульби картоплі дикого виду. В оболонці видно суберинову клітинну оболонку (SW) із типовими субериновими ламелами, між якими розміщується первинна оболонка (PW) та третинна оболонка (TW) (Serra et al., 2010)

Суберинізація клітинних оболонок може відбуватися в різних тканинах та структурах (Peterson et al., 1981; Robards et al., 1979; Pozuelo et al., 1984): в ендодермі (Espelie, Kolattukudy, 1979), клітинах обкладки провідних пучків трав (O'Brien, Kuo, 1975; Espelie, Kolattukudy, 1979), в обкладках навколо ідіобластів (Wattendorff, 1976, a; 1976 b), трихомах та навколо секреторних залоз (Thomson et al., 1979), в оболонках клітин кори та покривних тканин насіння (Espelie et al., 1980), а також у фібрилах тканин бавовника (Yatsu et al., 1983).

Суберинізація тканин може виникати при пораненні рослини, при дії води на бульби чи тканини картоплі в культурі *in vitro* (Soliday et al., 1978). Індукування суберинізації також відбувається й при дії фітогормону абсцизової кислоти (Kolattukudy, 1984). Встановлено, що через 30-60 хв. після механічного поранення поверхні бульб картоплі на місці механічного пошкодження формується перидерма, в клітинних оболонках якої відкладається суберин. Формування макромолекул суберину супроводжується утворенням великої кількості активних форм кисню та активацією NADPH-залежної оксидази (Razen, Bernads, 2003).

Функції суберину. Суберин, як і кутин, служить бар'єром для втрат води рослинними тканинами. Синтез суберину відбувається паралельно із синтезом восків (Soliday et al., 1978), що було показано на бульбах картоплі. Суберин також служить бар'єром для апопластного транспорту розчинів по тканинах кореня. Крім того, виявлено, що синтез суберину в ендодермі коренів може відбуватися за умов нестачі солей магнію (Pozuelo et al., 1984). Тому суберин відкладається в оболонках ендодерми та клітинах поясків Каспарі (Peterson et al., 1981). Суберин може відкладатися в провідних пучках трав за аналогією з ендодермою, а також – навколо ідіобластів, ізолюючи кристали оксалату кальцію від цитоплазми (Wattendorf, 1976, a; 1976, b), в трихомах листків – для захисту та ізоляції епідермісу листка від смоляних виділень трихомами (Thomson et al., 1979), при пораненні органів – його синтез відбувається на поверхні рани (Dean, Kolattuduky, 1976). При патогенезі суберин синтезується дуже швидко, і, таким чином, утворює бар'єр проти інвазії патогену (Parameswaran et al., 1976).

1.5.2. Кутин

Відомо, що клітинні оболонки надводних і частково підводних органів покриті кутикулою, яка містить полімер кутин. У суходільних рослин кутин може бути частково занурений у віск. Такі зовнішні оболонки епідермальних клітин характеризуються тришаровою структурою: ззовні розміщується шар кутикули, за ним йде серединний пектиновий шар, і на сам кінець, біля плазмалеми розміщується внутрішній целюлозний шар (Kolattukudy, 1984). Кох та Барло представили схематичну модель будови зовнішньої оболонки епідермальної клітини (рис. 1.5.2.1) (Koch, Barthlott, 2009). Кутин у структурному відношенні – це аморфна речовина, ззовні якої може відкладатися віск.

У зовнішньому кутикулярному шарі є як полярні, так і неполярні компоненти. При обробці пектинового шару пектиназою або оксалатом амонію відбувається відділення кутикулярного шару. Цей матеріал було використано для вивчення вмісту складових кутину. Дані електронної мікроскопії показали, що кутин – це аморфний матеріал. Також доведено, що кутин містить у своєму складі аліфатичні мономерні компоненти. Кутин складається із C_{16} та C_{18} мономерів, основним компонентом яких є дигідроксипальмітинова кислота, в якій одна гідроксильна група розміщується біля карбоксилу, а інша – біля

C-10, C-9, C-8 чи C-7. Також у кутині є невелика кількість пальмітинової кислоти та 16-гідроксипальмітинової кислоти. Головним компонентом родини C₁₈-кутину є кутинові кислоти, а саме: 18-гідроксиоктадекенова кислота; 9,10-епокси-18-тригідроксиоктадекенова кислота та ненасичені Δ₁₂-аналоги (Kolattukudy, 1980; Kolattukudy et al., 1981).

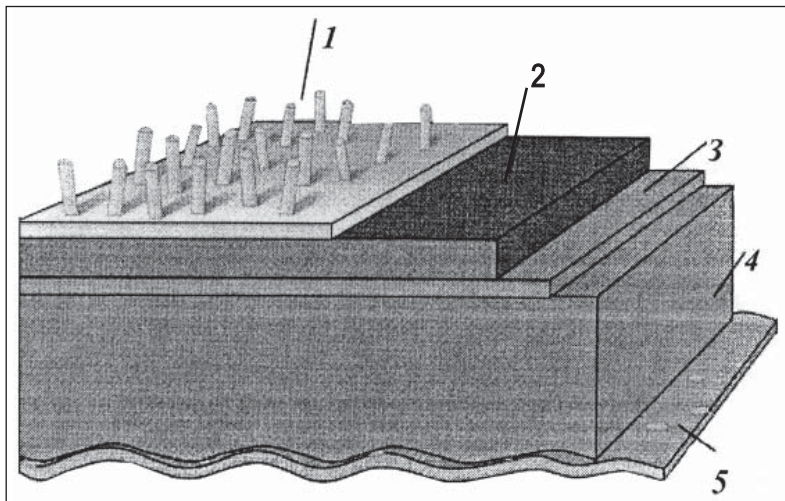


Рис. 1.5.2.1. Спрощена модель розшарування складових полісахаридів в епідермальній клітині. Позначення: 1 – кутикулярний шар із трубчастоподібними виростами (шар із вбудованим у нього воском); 2 – пектиновий шар (об'єднаний із воском), 3 – епівосковий шар, 4 – основний широкий целюлозний шар; 5 – цитоплазматична мембрана (Koch, Barthlott, 2009)

Як правило, кутикула є в епідермі надземних органів, але часто відсутня в коренях і вторинних тканинах. Головна функція кутикули листків та стебел – це бар'єр транспірації (Riederer, Schreiber, 2001). Кутикула – це полієфір, який названо кутином, що вбудований в епікутикулярний віск (Holloway 1994). Епікутикулярний віск відіграє головну роль у структурованості поверхні епідермальних клітин. Кутикулярна сітка утворюється кутином, а іноді й кутаном або ж іншим полімером – лігніном (Kolattukudy, 2001).

Функції кутину. Кутин бере участь у регуляції дифузії газів та вологи у основних клітинах епідерми та замикаючих клітинах продихів, оболонки яких у порі та на адаксіальній поверхні листків вкриті кутином. Крім того, кутин є фізичним та хімічним бар'єром для інвазії патогенів у рослини (van den Ende, Linskens, 1974). Відомо, що кутикулярна мембрана може бути як гідрофобною, так і гідрофільною. Якщо кутикулярна мембрана гідрофобна, то функції кутикули – це зниження втрат води органами; а якщо кутикула – гідрофільна, то її функції полягають у транспорті води, водних розчинів, а також ліпідів (восків) (Miller, 1985; 1986).

За останні роки охарактеризовані транспортні функції кутикули як для іонів та води, так і для різних водних розчинів (Schönherr, 1982; 2006). Встановлено, що функціонування кутикули в листках суходільних рослин залежить від зміни зовнішньої температури повітря, вологості, інтенсивності світла (Grammatikopoulos, Maneta, 1994; Yates, Hutley, 1995). Крім того, товщина кутикулярного шару в листках змінюється не тільки в залежності від екологічної спеціалізації видів, але і в процесі онтогенезу (Буюн, 2011).

Визначення швидкості водного транспорту через кутикулу епідермісу, який не містив продихів, показало, що саме кутикулярне випаровування в нижньому епідермісі становило $3,6 \times 10^{-5}$ М/сек⁻¹; у верхньому епідермісі – $3,1 \times 10^{-6}$ М/сек⁻¹, відповідно. Водночас, провідність води крізь продихи на обох поверхнях була вищою в 11–12 разів (особливо на нижній поверхні) (Rieder, Schreiber, 2001; Kersteins, 2006).

Провідність води крізь кутикулярні пори збільшується зі збільшенням вологості повітря (Hoad et al., 1997; Schreiber et al., 2001). І як вважає Дж. Шонхер, вірогідність таких змін залежить від ступеня гідратації полярних груп, які виникають у кутикулярних порах (Schönherr, 1982). Вода на одному боці кутикули знаходиться в рідкому стані, а при виході крізь пори кутикули залежно від оточуючої температури може бути в стані пару (Becker et al., 1986). Швидкість кутикулярної транспірації залежатиме від фізичного стану води. При температурі 25° С та стандартному тиску щільність рідкої води на декілька порядків вища, ніж щільність насичення водяного пару в повітрі. Яким чином вода проходить крізь пори, поки невідомо.

Д. Керстейнс припускає, що молекули води, які транспортуються крізь ліпофільну фазу кутикули шляхом дифузії й утворюють водні краплі на її протилежному зовнішньому боці кутикули, поновлюють енергію, яка необхідна для відокремлення від рідкої фази донора-води (Kersteins, 1996; 2006). Активація енергії відбувається за рахунок розриву водневих зв'язків у молекулі води для утворення та дифузії її рідкої фази (Schreiber et al., 2001). Молекули пор мають тимчасові диполі, які називаються полярними молекулами. Від трьох до п'яти молекул води зв'язуються з іонами K^+ і Na^+ , а шість молекул води – із Ca^{++} . Усі дипольні молекули (вуглецю, водню, NO_2 , $COOH$) можуть зв'язуватися з молекулами води, а саме з воднем, на що й витрачається енергія, величина якої становить приблизно $20 - 100$ кДж/М⁻¹ (Israelachvili, 1999). Причому зауважимо, що зв'язування молекул води з одновалентними катіонами в кутикулі відбувається надзвичайно швидко, приблизно за 10^{-9} сек⁻¹, з іонами Ca^{++} та Mg^{++} – за 10^{-8} та 10^{-6} сек⁻¹, відповідно, а з тривалентними іонами – від кількох секунд до кількох годин (Schönherr, 2006). Тобто, крізь водні пори кутикули проникають усі іони, які гідратовані, тобто такі, що зв'язуються з молекулами води, котра утворює навколо іонів гідратну оболонку. Дж. Шонхер, використовуючи полімерний матрикс і кутикулярну мембрану, як модельну систему для дослідження функціонування кутикулярних пор, встановив, що зростання вологості повітря від 20 до 100 % збільшувало проникнення води через кутикулу (Schönherr, 2006).

Залежно від води, що випаровується, кутикула може розбухати, утворюючи водну фазу, тобто виникають водні пори. Це відбувається за умов, якщо до складу кутикули входять тимчасові дипольні молекули, а саме аміно-, гідрокси- та карбоксильні групи, які мають здатність адсорбувати воду. Кутикулярні водні пори утворюються тільки за наявності води; їхню локалізацію можна визначити флуоресцентним барвником (нітратом срібла). Водні пори локалізуються переважно в основі трихом, по краю кутикули над антиклінальними оболонками епідермісу (Schönher, 2006). Розмір пор залежить від виду та органу: в епідермісі лушпиння бульб цибулі кутикула мала пори, радіус яких становив близько 0,41 нм, у плодів томатів і перцю – від 0,87 до 1,18 нм (Beyer, et al., 2005; Schönher, 2006), а в штучній кутикулярній мембрані він був у 1,5–2,5 рази більший (Schönher, 2006). Незвичайні за розміром, а саме «велетенські» кутикулярні пори з розміром апертури від 1 мкм до 5 мкм описані в листках *Eidothea zoelylocarya*, яка зростала в австралійських тропіках (Carpenter et al., 2007). Щільність цих пор становила $1,2 \times 10^5$ мм⁻² площі клітинної оболонки. Автори припускають, що «велетенські» пори не впливали на провідність води; проте їхнє функціонування, можливо, пов'язане з регуляцією впливу сонячної радіації, шляхом транспортування (та заповнення) крізь пори гідрофобного епікутикулярного воску для захисту листків від ультрафіолетової радіації в суху пору року (Carpenter et al., 2007).

Кутикулярна поверхня рослинних надземних органів може характеризуватися великою різноманітністю структур, здатністю до формування та захисту від дії навколишнього середовища. Адаптація до модифікованих умов привела до значних змін у структурі поверхні (Koch et al. 2008; 2009, a; 2009, b) та розвитку мультифункціональних захисних поверхонь у рослин, які подібні за структурою до водовідштовхуючої поверхні листків лотоса (Genzer, Margir, 2008), а також до формування поверхні, яка знижує рухливість структур поверхні під час руху води, за аналогією зі шкірою акули (Bechert et al. 2000). Структурні особливості рослинної поверхні включають утворення поверхні з низькою липучістю та високою слизькістю для комах (Gorb et al. 2005), крім того, така поверхня може збільшувати відбиття хвиль, світла або ж зменшувати пошкоджуючу дію ультрафіолетової радіації шляхом абсорбції (PfuEndel et al. 2006). Властивість поверхні епідерми рослин до супергідрофобності та самоочистки привертає увагу дослідників.

Встановлено, що кутикула, точніше пори в кутикулі є транспортними шляхами для проходження воску на поверхню кутикули. Транскутикулярні канали орієнтовані антиклінально до зовнішньої та до внутрішньої поверхонь, вони закінчуються на обох поверхнях, як дискретні пори. Кутикулярні канали часто мають дуговидну структуру, або ж нагадують «хробака». Кореляцій між товщиною кутикулярної мембрани і числом пор чи каналів не відмічено (Miller, 1985; 1986). Мілер, досліджуючи кутикулу листків *Noya carnosia*, показав, що кількість пор в кутикулі на адаксіальній поверхні змінюється від 148 до 651 (в середньому 327) та від 147 до 394 (в середньому 234) – на абаксіальній поверхні. Підраховано, що на верхній поверхні листка на 1 мм² площі було 6540 кутикулярних пор та 4680 пор – на 1 мм² абаксіальної поверхні (Miller, 1986).

Кутикулярна стійкість до втрат води залежить від складу ліпідів в матриці кутикули (Schreiber et al., 1997). Кутикула має забезпечувати пластичність клітинної оболонки під час росту клітин. Тому еластичність клітинних оболонок частково забезпечується при формуванні тріщин у кутикулі, що впливає на час тривалості росту та розвитку плодів. Кутикула також забезпечує механічну підтримку органів і тканин (Edwards et al., 1999). Вивчення структурних і механічних властивостей волокон чортополоха припускає, що кутикула є життєвою реакцією на тигмотропізм (Pesacreta, Hasenstein, 1999). Проте мало відомо про параметри чи контроль механічних властивостей кутикули.

Зв'язок між механічними властивостями та біохімічним складом кутикули був проаналізований американськими дослідниками (Marga et al., 2003), які, досліджуючи кутикулу листків та пелюсток квітів *Cirsium sp.*, показали, що біохімічний склад кутикули впливав на її еластичність. Автори виявили, що відношення вуглеводів до ліпідів у кутикулі пелюсток квітів становило 1:7, а в листках – 2:1. Ліпіди на 70 % були представлені жирними кислотами, гідрокси- жирними кислотами та епоксидними кислотами. Серед вуглеводів були ідентифіковані рамноза, ксилоза, маноза, глюкоза, галактоза та галактуронова кислота, вони складали до 15 % кутикули. Третя група складових була представлена фенольними компонентами, а саме похідними шинамінової, кофеїнової та *p*-кумаринової кислот. Крім цих складових були знайдені і тритерпеноїди (α - та β -амірини та β -зітостерол). Етерифікований кутин складався на 80 % із кутикули та ди-гідроксигексадеканоїдних кислот. Кутин еластичних тканин характеризувався більш високим вмістом три-гідроксимономерів у порівнянні з кутином жорстких тканин. Таким чином, було показано, що більшість гідроксильних груп можуть виконувати роль потенціальних центрів для поперечного зв'язування, тоді як групи гідроксилів (OH⁻) частково визначають гідрофільність кутикули та легкість насичення водою (Marga et al., 2003).

З віком у кутикулі відбувається природне обезводнення (можливо, обумовлене збільшенням зв'язування поперечними зв'язками), що може приводити до затвердіння зрілої кутикули, як це описана деякими дослідниками (Kolattukudy, 1996; Holloway, 1982, a; 1982, b).

Мікроструктура поверхні кутикули. Рель'єф периклінальних та антиклінальних оболонок епідерми залежить від відношення висоти до ширини кутикулярного зовнішнього шару. Основний клітинний згин є плоским, проте він може бути опуклим наверх чи донизу. Відповідно до форми відношення висоти до ширини опуклі клітини ділять на кілька типів: півкуля, купол, конус, волоски чи сосочки (Koch, Barthlott, 2009; Koch et al. 2008; 2009). Вирости епідермальних клітин при відношенні 7:1 (висоти до ширини), або ж і більше названі волосками чи трихомами. Різновидність форм волосків та їхніх функцій подані в огляді Вагнера зі співавторами (Wagner et al., 2004). Функціональне значення волосків (одно- чи багатоклітинних) – це затримання вологи на поверхні та захист поверхні від перегріву на сонці.

Як відомо, існує два типи поверхні епідермальних клітин, перший тип – вкритий кутикулою (рис. 1.5.2.2 та 1.5.2.3), і другий тип – поверхня ззовні містить плівку воску, який називають епікутикулярним воском. Другий тип клітинної поверхні – це кутикула з епікутикулярним воском, яку спостерігаємо на поверхні листків чи пелюсток квіток. Найчастіше кутикула на поверхні листків має форму борозен. Кутикулярні борозни – це чергування хвилеподібних ринв і гребенів (завширшки близько $0,6 \pm 0,05$ мкм), розміщених по всіх клітинах епідерми, зокрема, й на клітинах, що оточують прориди. Висота та ширина кутикулярних борозен на нижній поверхні основних клітин епідерми у 2,5–3,0 рази менша, ніж на верхній поверхні епідерми (рис. 1.5.2.2), що було показано, наприклад, на листках суходільної форми *Sium latifolium* (Недуха, 2011).

Структура кутикули на поверхні клітин може також мати бугорчату (бородавчату) (Barthlott, Ehler, 1977), складчасту форму (у листків *Schismatoglottis neoguineensis*), або ж формувати нарости чи потовщення на нижній поверхні листків *Alocasia macrorhiza* (Koch, Barthlott, 2009; Koch et al., 2009) і поверхнях повітряних листків *Sagittaria sagittifolia* (Недуха, 2011). На ультратонких зрізах епідермальних клітин кутикула периклінальних оболонок характеризується гомогенною електронно темною (рис. 1.5.2.3, а) чи електронно світлою (рис. 1.5.2.3, б) майже однорідною структурою й не містить мікрофібрил целюлози (Гамалей, 1974; Недуха, 2011).

Субкутикулярні вставки можуть мати у своєму складі кристали діоксиду кремнію, зокрема, вони виявлені в пагонах та листках хвоща (*Equisetum arvensis*). Наявність кремнію пов'язана з механічними та фізіологічними властивостями певної рослини (Sangster et al. 2001).

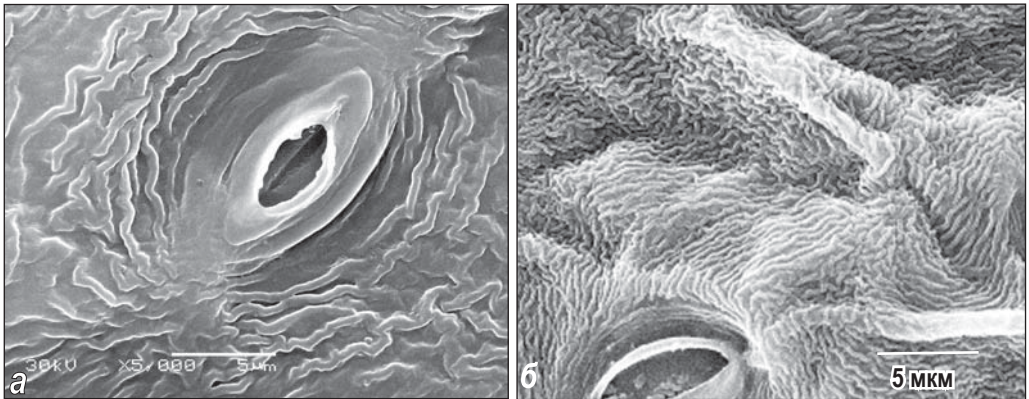


Рис. 1.5.2.2. Структура верхньої (а) та нижньої (б) поверхні листків *Sium latifolium*. Кутикула на поверхні листків має форму борозен. Реперна мітка: а, б = 5 мкм (Недуха, 2011)

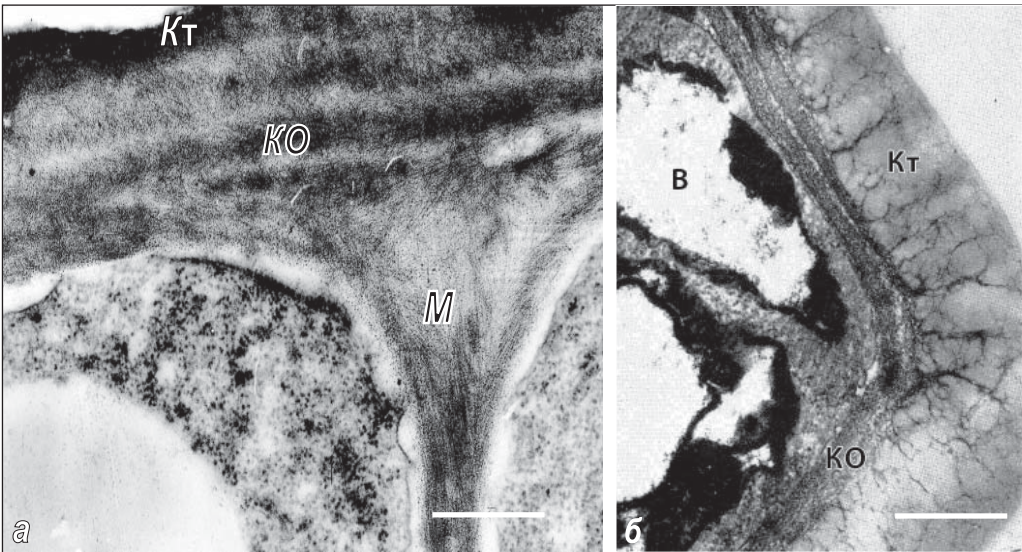


Рис. 1.5.2.3. Фрагменти епідермальних клітин сім'ядолей 16-ти добових проростків сої та чорної смородини. Позначення: В – вакуоль, Кт – кутикула, КО – клітинна оболонка, М – мікрофібрили целюлози. Реперна мітка: **а, б** = 1 мкм, (рис. **а** - Недуха, 1994; рис. **б** – Гамалей, 1972)

1.5.3. Віск

Рослинний віск – це суміш аліфатичних та циклічних гідрокарбонатів та їх похідних. Хімічний склад рослинних восків варіює в залежності від виду та органу (навіть, одного й того виду) (Kunst, Samuels 2003; Jeffree, 1996; Jetter et al. 2006). Показано, що хімічний склад восків визначається методом їхньої розчинності та екстрагування (Jetter, SchaEffer, 2001; Wen et al.2007).

Склад кутикулярного воску залежить від виду, фази онтогенезу та зовнішніх умов навколо рослини. Але спільними компонентами для всіх восків є *n*-парафіни та первинні спирти, що містять вуглець від C16 і вище. Компоненти довгих алкільних ланцюгів характеризуються поліморфізмом (рідинна фаза – це гексагональна упаковка, тверда фаза – це орторомбічна упаковка). Кутикулярний віск може знаходитися в різних фазах, і бути в кристалічній формі, що визначає транспортні властивості кутикули. Висококристалічна зона є недосяжною для проникнення води, тоді як суміш двох хімічних I-тетрадеканового та I-октодеканового (I-tetradecanol та I-octadecanol) гомологічних восків робить віск розділеним на дві фази (на два шари) (Holloway, 1994; Buchholz, 2006).

Співіснування кристалічної, рідинної та аморфної фаз воску може бути характерним для багатьох видів рослин (Reynhardt, Riederer, 1994; Schreiber et al., 1997). Ступінь кристалічності воску та просторова будова кристалів визначають проникненість через аморфну фазу, від якої залежить ефективність дифузійного бар'єру. Таким чином, можна зробити висновок, що епікутикулярні воски зберігаються на поверхні листка й не впливають на проникненість, але обмежують доступ до пор. Однак, інтракутикулярні воски – це в основному аморфні воски, що визначають в'язкість кристалів, їх звивистість, зниження об'єму, що може впливати на проникненість. На поверхні листків чи плодів віск має білий або ж блакитний колір, який відбиває частину світла (Mueller, Riederer 2005).

Епікутикулярні воски можуть мати форму кристалів, трубок, горбків (глобул) (рис. 1.5.3.1) або іншу форму, та відрізнятися за розмірами (від 0,2 до 1000 нм) (Reynhardt, Riederer 1994; Dorset 1997, 1999; Schreiber et al. 1997; Ensikat et al. 2006; Dragota, Riederer, 2007; Недуха, 2011). Базуючись на хімічних та морфологічних особливостях та розглядаючи орієнтацію воскових кристалів на поверхні, В. Барло зі співав. запропонували 23 типи та підтипи структури восків (Barthlott et al., 1998), тоді як С. Джефрі розрізняв тільки шість основних морфологічних типів восків, їх підтипи базувалися на різному хімічному складі воскових структур. Основними морфологічними типами восків є плівки воску (*Hydrocotyle bonariensis*); кірочки (*Crassula ovate*), β -дикетоніві трубки чи інші трубки (*Eucalyptus gunnii*), пластинки (*Robinia pseudoacacia*), палички (*Brassica oleracea*) та поперечно загострені палички (*Sassafras albidum*) (Jeffree et al., 1975; Jeffree, 1996). Необхідно відмітити, що щільність та розміри воскових структур на поверхні листків залежать від поверхні листової пластинки (адаксіальна чи абаксіальна), а також від розміщення листків на стеблі, чи в розетці навіть однієї рослини. Як приклад, наведемо ультраструктурні дані показників воскового нальоту у формі трубок на поверхні листків *Wollemia nobilis* (Dragota, Riederer, 2007) та у формі горбків – на поверхні клітин верхньої й нижньої епідерм надводних листків *Sagittaria sagittifolia* (рис. 1.5.3.1, а-г; табл. 1.5.3.1) (Недуха, 2011) та верхньої епідерми листків пшениці (рис. 1.5.3.1, д) (Недуха, 1994).

Восковий наліт є не тільки захисним бар'єром листків від випаровування й дії біотичних факторів (рослинних шкідників), але й бере участь у регуляції поглинання світла поверхнею листових пластинок. Верхній епідерміс листків реагує на поглинання світла, впливаючи на фотосинтез (Nishio et al., 1994). Це може відбуватися внаслідок формування воскового нальоту й зміни його форми (Горшкова, Зверева, 1988). Восковий наліт у вигляді тарілкоподібних (увігнутих чи опуклих) утворень може збирати (фокусувати) або розсіювати потік фотонів у клітинах епідермісу та в клітинах верхніх шарів паренхіми або ж спричиняти фотоінгібування у певної частини хлоропластів, регулюючи швидкість фотосинтезу (Nishio et al., 1994). У процесі онтогенезу склад епідермального воску змінюється.

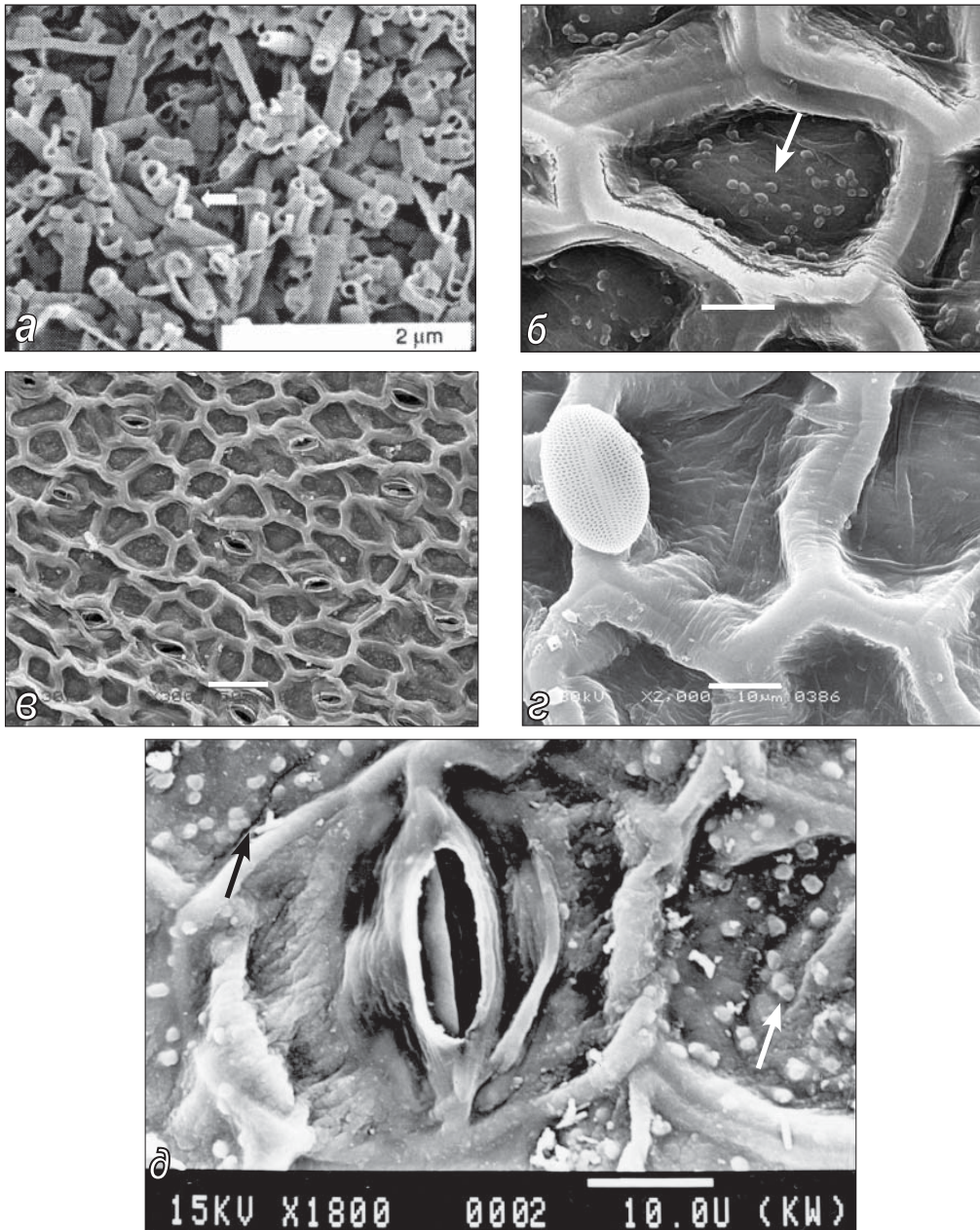


Рис. 1.5.3.1. Структура нижньої поверхні листків *Wollemia nobilis* (рис. **а**), верхньої поверхні надводних листків *Sagittaria sagittifolia* (**б-в**) та листків пшениці (**д**). **а** – Віск трубчастої форми, **б-д** – віск напівсферичної глобулярної (горбкоподібної) форми.; **б** – листок зі стрілоподібною пластинкою; **в, г** – листок з продовгуватою пластинкою. На периферії клітин над антиклинальними оболонками виступає високе потовщення кутикули (рис. **в, г**), восковий наліт указано стрілками. Масштаб: **а** = 2 мкм; **б, г, д** = 10 мкм; **в** = 50 мкм (рис. **а** – по Dragota, Rierder, 2007; рис. **б-д** – Недуха, 1994; 2011)

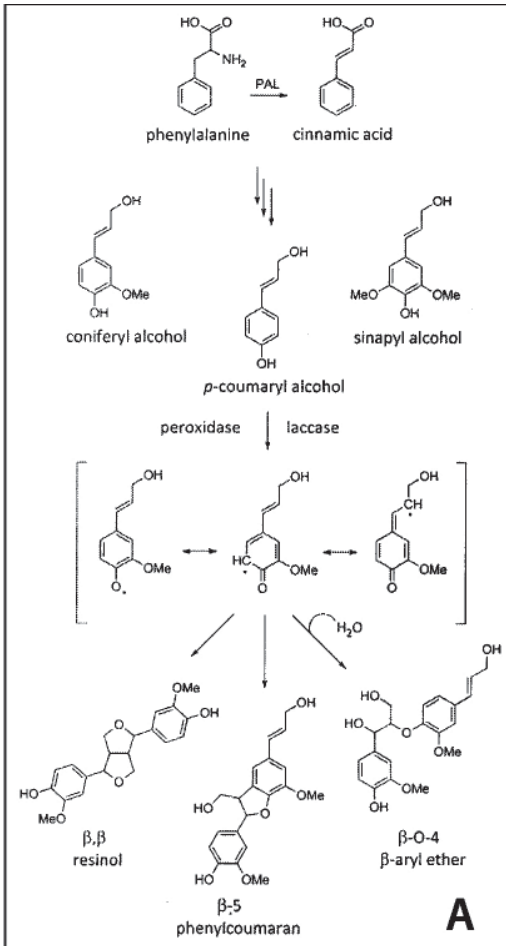
ТАБЛИЦЯ 1.5.3.1. Показники структури клітин верхньої та нижньої епідерми надводних листків *Sagittaria sagittifolia* (Недуха, 2011)

| Показник | Форма надводних листків | |
|--|-------------------------|--------------|
| | стрілоподібні | продовгуваті |
| Верхня епідерма | | |
| Епідермальні клітини: | | |
| довга вісь, мкм | 45,5 ± 3,9 | 44,3 ± 5,7 |
| коротка вісь, мкм | 35,0 ± 4,1 | 30,9 ± 2,7 |
| Висота кутикулярних гребенів по периметру основних епідермальних клітин, мкм | 5,5 ± 0,7 | 5,4 ± 0,2 |
| Кількість воскових горбків на клітину епідерми | 30,7 ± 5,1 | 6,2 ± 0,5 |
| Процент клітин із воском, % | 100 | 43 ± 4,5 |
| Діаметр воскових горбків, мкм | 1,46 ± 0,13 | 1,0 ± 0,04 |
| Нижня епідерма | | |
| Епідермальні клітини: | | |
| довга вісь, мкм | 62,0 ± 3,9 | 62,3 ± 3,1 |
| коротка вісь, мкм | 36,3 ± 5,1 | 34,7 ± 2,7 |
| Висота кутикулярних гребенів по периметру основних епідермальних клітин, мкм | 4,9 ± 0,3 | 5,4 ± 0,17 |
| Кількість воскових горбків на клітину епідерми | 29,3 ± 5,1 | 13,8 ± 2,75 |
| Процент клітин із воском, % | 100 | 24 ± 3 |
| Діаметр воскових горбків, мкм | 1,24 ± 0,1 | 0,8 ± 0,1 |

На листках *Hedera helix* L., у яких методами газової хроматографії та мас-спектрофотометрії досліджували кутикулярну транспірацію та склад воску протягом онтогенезу, починаючи із 4-ої доби утворення листків до 202-ої доби їхнього функціонування, встановлено, що компонентами кутикулярного воску є полярна та неполярна мономерна фракція воску, а також полярна олігомерна воскова фракція, яка складалася з первинних спиртів і кислот, які були етерифіковані переважно до C₁₂-, C₁₄- і C₁₆-ω-гідроксижирних кислот (Hauke, Schreiber, 1998). Доведено, що максимальна кількість неполярної фракції спостерігалася на 30-ту добу онтогенезу листків. Протягом наступних 6 місяців розвитку вміст цієї фракції воску поступово знижувався. Тимчасом, вміст восків полярної фракції досягав максимуму на сорокову добу, а потім протягом усього онтогенезу лишався незмінним. Величина кутикулярної транспірації також змінювалася протягом онтогенезу: під час перших 30-ти діб розвитку листків транспірація поступово знижувалася, а у наступні 180 діб практично не змінювалася. Тобто, показано, що швидкість кутикулярної транспірації пов'язана з наявністю в кутикулярному матриксі неполярних мономерів воску (Hauke, Schreiber, 1998).

1.5.4. Лігнін

Склад лігніну. Лігнін – розгалужений біополімер, який разом із геміцелюлозами та пектином діє, як клейкий матрикс для мікрофібрил целюлози. Лігнін забезпечує механічну міцність тканин та органів, непроникність води та водних розчинів через оболонки трахеїд, що робить трахеїди здатними транспортувати воду та водні розчини на значні відстані. Крім того, лігнін захищає протопласт клітини від вторгнення патогенів. Лігнін представляє собою комплекс фенілпропаноїдів (монолігнінів), синтез яких



починається з окислення амінокислоти феніلالаніну. Монолігніни будуються із блоків *p*-кумарового, синапового та коніферолового спиртів, утворюючи *p*-гідроксифенілові (hydroxyphenyl, H), гваяцилові (guaiacyl, G) та сиригнілові (syringyl, S) фенілпропаноїдні одиниці (Erdtman, 1957; Freudenberg, Neish,

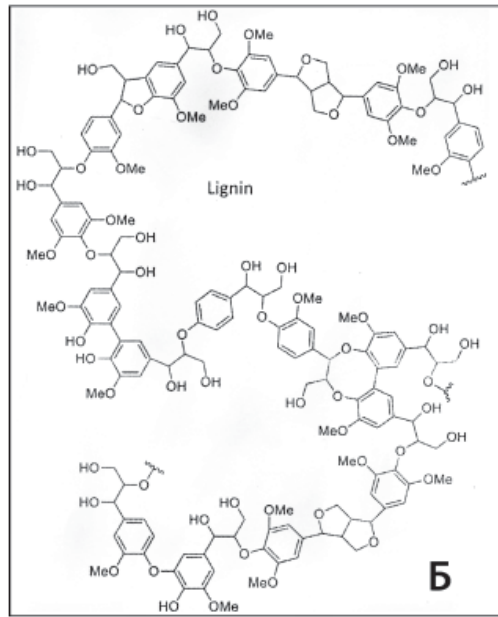


Рис. 1.5.4.1. Схема біосинтезу лігніну та його структура (Leisola et al., 2012; Vanholme et al., 2010). **A** – Шинамінові кислоти утворюються з феніلالаніну за допомогою феніلالанін-амоній-ліази (phenylalanine ammonia lyase, PAL). При цьому утворюється монолігнін за допомогою кількох ферментів. Peroксидази та лакази починають полімеризацію монолігнінів за допомогою радикалів. **B** – Схема структури лігніну за Vanholme et al. (2010)

1968; Adler, 1977), які включаються в полімеризацію лігніну (рис. 1.5.4.1) (Leisola et al., 2012).

Склад, вміст та молекулярна вага лігніну (від кількох тисяч до 10000 Да) залежить від виду, положення стебел чи листків на дереві, та навіть від положення клітини в тканині. З'єднання між мезомерними радикальними мономерами класифікується як неконденсований (в основному, аріл-алкіл- β -О-4 ефірні зв'язки), або ж конденсований лігнін (в основному С-С-зв'язки) (Joseleau, Ruel, 1997; Kukkola et al., 2003). На сьогодні точний механізм, який контролює утворення полімерів у лігніні рослин невідомий. Дані про час початку відкладання лігніну протилежні: японські дослідники (Yoshinaga et al., 1997) вважають, що лігнін відкладається в оболонках трахеїд тільки після синтезу полісахаридів, тоді як інші автори показали, що сітка новосинтезованої целюлози лишається неорганізованою, доки лігнін не почне відкладатись (Grünwald et al., 2002).

Сирингіловий монолігнін в основному входить до складу лігніну квіткових рослин та лікофітів (lycophyte, Selaginella), тоді як гідроксифеніловий (H) та гваяциловий (G) монолігніни входять до складу лігніну всіх судинних рослин. Мохоподібні не синтезують лігніну, але можуть містити розчинні фенілпропаноїди, як флавоноїди та лігнани (Weng et al., 2008; 2010).

У голонасінних лігнін відкладається в деревині, він збагачений H одиницями. У покритонасінних склад лігніну змінюється в залежності від виду, тканини та клітини. Так, у клітинах фібрил та клітинах паренхіми стебла в основному лігнін містить сирингіловий монолігнін, тоді як клітинні оболонки трахеальних елементів та ксилеми – гваяциловий монолігнін (Weng et al., 2008). У трав'янистих (однодольних) є G та S одиниці, вміст яких майже однаковий, вони також можуть містити й H одиниці, але їх більше, ніж у дводольних (Baucher et al., 1998). В оболонках судин деревини берези лігнін походить в основному з коніферолового спирту, тоді як фібрили оболонок мають у своєму складі синаповий та коніфероловий спирти (Fergus, Goring, 1970). У стеблах *Arabidopsis* лігнін провідних пучків в основному складається із G одиниць, тоді як фібрили пучків – із S одиниць (Chapple, et al., 1994). У деревини сосни лігнін серединної ламели має в основному *p*-кумариловий спирт, а вторинна оболонка містить коніфероловий спирт. Це було визначено за допомогою мітки, яку спостерігали в серединній ламелі оболонок або ж по кутах клітин з вторинною оболонкою (Terashima et al., 1993). Проте розвиток вторинної оболонки, що утворює три шари (внутрішній, середній та зовнішній) показує наявність трьох видів монолігнолів, які представлені H, G та S одиницями (Terashima et al., 1993; Terashima et al., 1986, a; 1986, b). Ці дані допускають, що мономери лігніну, що відкладаються в оболонці, мають високу організованість, регулюються певними процесами та, очевидно, володіють механізмом активного транспорту в середину оболонки й характеризуються відкладенням певних монолігнінів.

У м'якій деревині лігнін в основному складається із гваяколових одиниць, тобто структура лігніну походить від коніферолового спирту, тоді як оболонки твердої деревини в основному складаються із сирингілу, що походить від синапового спирту (Sarkanen, Hergert, 1971). Вважають, що зі збільшенням величини відношення G/S підвищується хімічний бар'єр для захисту клітини від проникнення води та інвазії патогенів (Menden et al., 2007).

Механізми, за допомогою яких монолігніни секретуються із цитоплазматичних компартментів в апопласт, не зовсім з'ясовані. Відомо, що для синтезу, а саме, полімеризації лігніну, необхідним є наявність пероксидаз (гемміщуючого ферменту, що використовується для активації перекису водню) та/або ж іншого ферменту – лакази, що містить мідь і використовує для активації молекулярний кисень. Радикали монолігнінів можуть утворювати димери, які окисляються. Наприклад, два радикали коніферолового спирту можуть реагувати між собою, утворюючи п'ятнадцять різних димерів, і тільки п'ять з них лишаються стабільними. Ці димери окислюються до утворення радикалів, які також можуть реагувати один з одним, утворюючи великий комплекс. Найбільш сприятливим є монолігнін, що формує зв'язки в β -положенні, а димери в основному представляють собою β - β , β -O-4 та β -5-зв'язані молекули. Очевидно, що складності для окисних ферментів полягають в обмеженні прямого доступу до синтезуючого полімеру лігніну та його зв'язку з іншими полісахаридами матрикса (Vanholme et al., 2010).

Хімічна природа матрикса вуглеводів та мікрофібрил целюлози впливають на орієнтацію відкладання лігніну. Так у серединній пластинці та в первинній оболонці відклади лігніну мають сферичну структуру, тоді як у вторинних оболонках лігнін утворює ламели, які орієнтуються, як і мікрофібрили (Atalla, Agarwal, 1985; Donaldson, 2001). Лігнін, що відкладається, може утворювати хімічні зв'язки з геміцелюлозами та відштовхуючи воду, формувати гідрофобне оточення.

Дослідження локалізації лігніну можна проводити в ультрафіолетовому світлі на люмінесцентному та лазерному конфокальному мікроскопах (при фарбуванні акрифлавіном чи ауреміном-O лігнін флуоресцює жовто-зеленим, чи жовтим світлом, відповідно флуорохрому); у світловому мікроскопі (при фарбуванні метиленовим синім лігнін стає блакитного кольору), а також у трансмісійному й скануючому електронних мікроскопах, іноді в комбінації із імунохімічними методами.

Синтез лігніну

Існує кілька гіпотез щодо синтезу лігніну. Згідно першої гіпотези, полімеризація лігніну починається на дуже обмеженій ділянці клітинної оболонки, де відбувається синтез короткої послідовності. Кожна первинна послідовність є трафаретом для подальшої полімеризації ланцюгів лігніну (Davin, Lewis, 2005). Згідно другої гіпотези синтез лігніну контролюється умовами у клітинній оболонці, синтезом монолігнінів та хімічними реакціями, які призводять до утворення радикалів (Ralph et al., 1998). Радикали іонів утворюються за допомогою пероксидаз (Harkin, Obst, 1973), активність яких виявлена в клітинах, у культуральному середовищі, наприклад, у *Slender goldenbush* (Bredemeijer, Burg, 1986) та норвежської сосни (Karkonen et al., 2002). Такі оксидази, як лаказа, беруть участь у полімеризації лігніну (Freudenberg et al., 1958). Проте, пізніше від цієї гіпотези відмовилися у зв'язку з тим, що лігнін у таких умовах не змогли синтезувати *in vitro* (Nakamura, 1967). Проте лаказа була екстрагована із суспензійних клітин явора; вона брала участь у полімеризації монолігнінів (Sterjiades et al., 1992). Багато дослідників вважають, що лаказа залучена до полімеризації

лігніну, але заключних висновків про те, що лаказа активується при полімеризації лігніну *in vivo*, поки нема. Серед інших ферментів, що залучені до лігніфікації, виділяють оксиредуктазу, яка відноситься до одного типу з лаказою, вона виявлена в клітинах ксилеми *Populus euramericana*, що диференціюються (Dean *et al.*, 1998).

Лігніфікація оболонок судин провідних пучків починається після закінчення розтягу первинної клітинної оболонки в кутах клітини й серединній пластинці, цей процес проходить у напрямку до протопласту, заповнюючи пори в полісахаридній сітці полісахаридів оболонки (Wardrop, 1957; Saka, Goring, 1985; Donaldson, 1992). Лігніфікація продовжується доти, поки протопласт судин цілий і доки клітина не загине. Вважають, що структура лігніну змінюється постійно в залежності від органу та тканини рослини. Очевидно, що склад вуглеводного матрикса в різних шарах оболонки також може впливати на лігніфікацію (Donaldson, 1994).

Дослідження вказують на те, що на ранніх стадіях диференціювання клітин ксилеми, флоєми деревини та камбію високо конденсований *p*-гідроксифеніловий лігнін відкладається в кутках клітин та серединній пластинці первинної оболонки. Це було показано біохімічними та цитологічними методами при дослідженні різних тканин *Balsam poplar* та норвежської сосни (Christiernin, 2006). Середина пластинка може містити 50–70 % лігніну, тоді як вторинні оболонки – до 20%.

Для більшості диференційованих клітин характерним є наявність вторинних клітинних оболонок, які утворюються після закінчення розтягу клітини. Для клітин із вторинною оболонкою характерна пошарова структура, що складається із зовнішнього шару (S1), середнього (S2) та внутрішнього (біля плазмалемі) (рис. 1.5.4.2). Вважають, що лігнін розміщується лише в певних шарах таких оболонок. Якщо ж розглядати оболонку, як тришарову структуру, то згідно з даними (Kukkola *et al.*, 2003) конденсований лігнін у ксилемі норвежської сосни розміщується в S2 шарі, а в ксилемі берези в S3 (внутрішньому) шарі (Kukkola *et al.*, 2004).

Інші дослідники вважають, що спочатку відкладаються вуглеводи, потім іде відкладання лігніну в кутах та серединній пластинці, далі, коли починається відкладання S1 шару та заповнення середнього S2 шару полісахаридами матрикса, відбувається лігніфікація вторинної оболонки. Основна маса лігніну інкорпорується після відкладення целюлози та геміцелюлоз у внутрішньому S3 шарі (Baucher *et al.*, 1998; Donaldson, 2001; Saka, Goring, 1985).

Лігнін, що містить сирингілові одиниці, відкладається на пізніх стадіях диференціювання клітин, а також у первинній оболонці в S2 шарі. Коли ж відбувається значне відкладення полісахаридів, то лігніфікація спостерігається й в S1 шарі після відкладення полісахаридів (Christiernin, 2006).

Відомо, що включення трьох різних монолігнінів до лігніну залежить від виду, органу, типу тканини та стадії росту клітин та тканин (табл. 1.5.4.1 та 1.5.4.2) (Eom *et al.*, 1987; Christiernin, 2006). Авторадіографічним та мікроспектрометричним методами встановлено, що у покритонасінних першими в синтез лігніну включаються Н-одиниці та менше

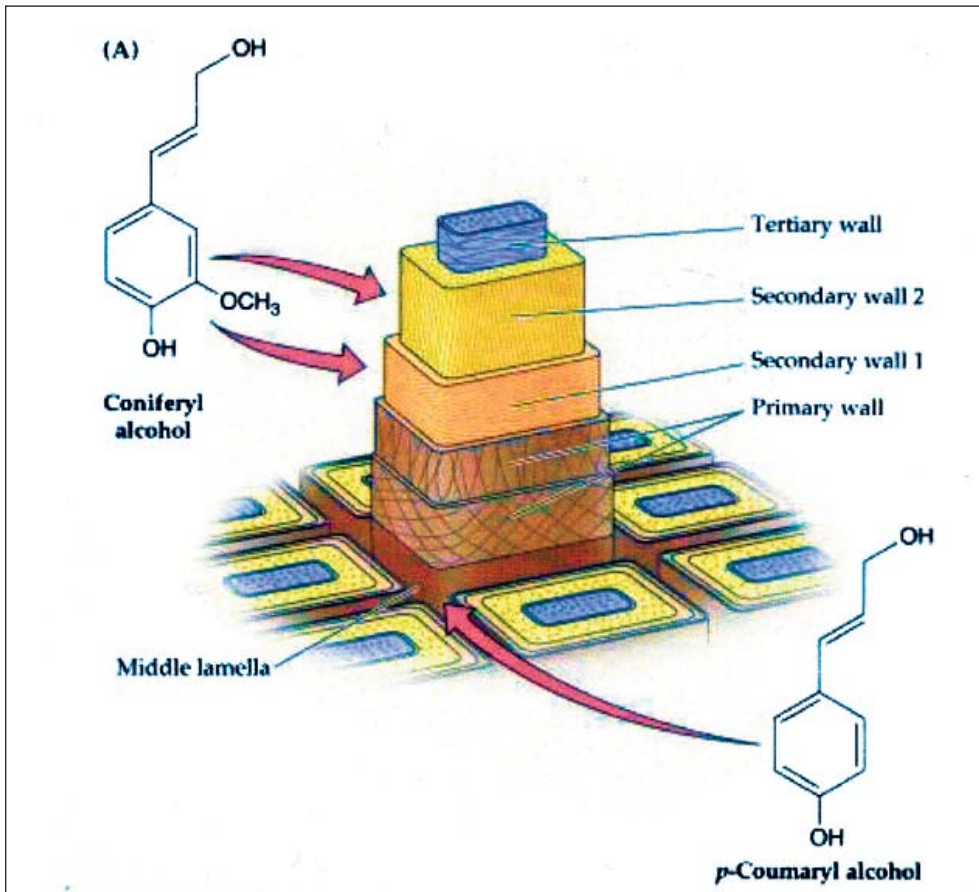


Рис. 1.5.4.2. Схематичне зображення пошарової вторинної клітинної оболонки. Позначення: серединна пластинка (middle lamella); P – первинна оболонка (primary wall). Шари вторинної оболонки: S1 – зовнішній шар, S2 – середній шар та TW (tertiary wall) – третій внутрішній шар. Мікрофібрили целюлози орієнтовані під різними кутами в різних шарах оболонки (Fengel, Wegener, 1984; Christiernin, 2006)

G-одиниць, тоді як S-одиниці включаються пізніше (Donaldson, 2001; Terashima et al., 1993). Тоді як лігнін у клітинах судин в основному збагачений G одиницями, лігнін фібрил – збагачений S одиницями (Saka, Goring, 1985). Велика частина S одиниць виявляється у вторинних оболонках пучків паренхіми (Fergus, Goring, 1970). За даними Грюнвальда зі співавторами (Grunwald et al., 2002) фібрили осики на ранніх стадіях диференціації містять в основному гваяциловий лігнін у серединній пластинці, тоді як на пізніх стадіях у ній збільшується вміст складових синрингілового та *p*-гідроксифенілового монолігнінів. Відношення синрингіл/гваяцил також залежить від органу: у листках, коренях та стеблах його величини значно відрізняються. Так у клона сріблястої груші (*Betula pendula* lines) це значення в листках становило $1,05 \pm 0,044$; у стеблах – $2,27 \pm 0,02$, у коренях – $2,56 \pm 0,09$, відповідно (Heidi Timonen, 2007).

ТАБЛИЦЯ 1.5.4.1. Вміст лігніну та його мономерів (після тіокислотного лізису) у різних тканинах деревини *Populus balsamifera* (Christiernin, 2006)

| Лігнін та його складові | Деревина тополі | Флоема, червень | Ксилема, червень | Флоема, серпень | Ксилема, серпень |
|--|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| Кислотно- розчний лігнін, % | 3 % | 6 % | 7 % | 7 % | 5 % |
| Лігнін (виділений по Класону*), % | 23 % | 2 % | 3 % | 2 % | 8 % |
| Сирінгіл, (μmol мономеру/ гр^{-1} лігніну по Класону) | 886 | 344 | 346 | 405 | 406 |
| Гваяцил, (μmol мономеру/ гр^{-1} лігніну по Класону) | 692 | 624 | 542 | 766 | 489 |
| S/G | 1,28 | 0,55 | 0,64 | 0,53 | 0,83 |

*- Klason lignin – це лігнін, визначення якого відбувається прямим гравіметричним методом після гідролізу та розчинення вуглеводів, де в залишку лишається лише лігнін (Christiernin, 2006).

ТАБЛИЦЯ 1.5.4. 2. Вміст лігніну та його мономерів (після тіокислотного лізису) у клітинах суспензійної культури тополі та деревині тополі (Christiernin, 2006)

| Лігнін та його складові | 7-ми денні клітини суспензії | 14-ти денні клітини суспензії | 21-но денні клітини суспензії | Деревина тополі |
|--|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| Кислотно-розчний лігнін, % | 9,8 % | 8,6 % | 8,4 % | 3,7 % |
| Лігнін, виділений по Класону, % | 0,7 % | 2,2 % | 3,9 % | 18 % |
| Сирінгіл, (μmol мономерк/ гр^{-1} лігніну по Класону) | Не визначено | Не визначено | Не визначено | 1932 |
| Гваяцил, (μmol мономеру/ гр^{-1} лігніну по Класону) | 575 | 337 | 194 | 1260 |
| S/G | Не визначено | Не визначено | Не визначено | 1,9 |

Біосинтез лігніну відбувається трьома шляхами, які відомі, як шикиматовий, фенілпропаноїдний та специфічний шляхи. Головний із них – це фенілпропаноїдний шлях (рис. 1.5.4.3) (Kukkola et al., 2003), в якому на першому етапі відбувається синтез фенілаланіну та тирозину на шляху синтезу шикимової кислоти. Другий етап – використання певних ферментів на фенілпропаноїдному шляху для перетворення цих амінокислот у подібні гідроксишинамінової кислоти. І третій етап – це формування монолігнінів (Grisebach, Nahlbrock, 1974; Lewis et al., 1999).

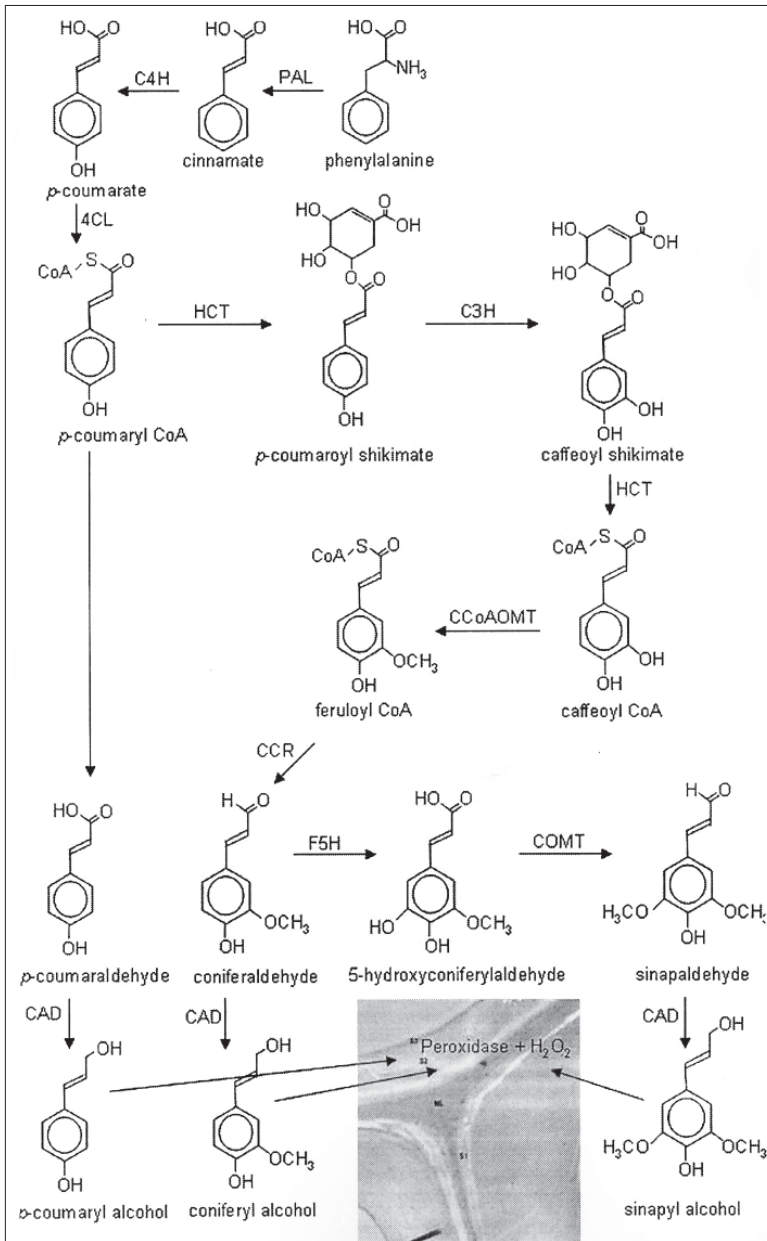


Рис. 1.5.4.3. Схема синтезу монолігнінів (Воєрjan et al., 2003). Трансмісійна мікрофотографія клітини трахеїди норвежської сосни (*Picea abies*), на рисунку вказана мітка колоїдним золотом у клітинній оболонці, яка була помічена антитілами проти дибензодиоксину.

Позначення: C4H – шинамат-4-гідроксилаза, PAL – феніламонійліаза, CAD – шинаматалкогольдегідрогеназа, CCoAOMT – кофеїн-КоА-О-метилтрансфераза, CCR – шинаматкоензим-А-редуктаза, COMT- кофеїнкісла О-метилтрансфераза, F5H – феруловокісла-5-гідролоза (Kukkola et al., 2003).

Біосинтез монолігнінів проходить шляхом серії ферментативних реакцій, які каталізуються шинамат-4-гідроксилазою (C4H) та феніламонійліазою (PAL) (Boerjan et al., 2003). Монолігніни синтезуються із р-кумарил-СоА при гідроксилюванні, О-метилуванні та перетворенні бокового ланцюга карбоксилу в спирт(и), після чого вони транспортуються до клітинної оболонки. Крім цих ферментів у синтезі лігніну беруть участь ще такі ферменти, як шинаматалкогольдегідрогеназа (CAD, cinnamyl alcohol dehydrogenase); кумарил-Ко-ензим А3-карбоксилаза (ССоА3Н, coumaryl Coenzyme A3-hydroxylase); кофеїн-Ко-ензим А-О-метилтрансфераза (ССоАОМТ, caffeoyl-coenzyme A-O methyltransferase); шинаміл-Коензим А редуктаза (CCR, cinnamoyl Coenzyme A reductase); О-метилтрансфераза кофеїнової кислоти (COMT, caffeic acid O-methyltransferase); 5-гідроксилаза ферулової кислоти (F5H, ferulic acid 5-hydroxylase) та кумариново-кислий:Ко-ензим А лігаза (4CL, 4-coumeric acid: Coenzyme A ligase (рис. 1.5.4.3) (Whetten, Sederoff, 1995; Lewis et al., 1999).

Дані про шляхи транспортування монолігнінів із цитоплазми до оболонки неоднозначні. Монолігніни знаходять як у вільному стані, так і у водно-розчинному, або ж у вигляді глюкозидів водно-розчинних монолігнінів (Steeves et al., 2001; Tsuji, Fukushima, 2004). Вважають, що вільні монолігніни або ж їх глюкозиди можуть проходити через цитоплазматичну мембрану різними шляхами: пасивною дифузією, завдяки гідрофобним зв'язкам; транспортуванням за допомогою везикул Гольджі або шляхом активної дифузії, використовуючи АТФ-зв'язуючі транспортери (Marjamaa et al., 2009).

Недавні дослідження геному на рівні вивчення транскрипції та дослідження протеому показали, що в голонасінних та покритонасінних під час диференціації ксилеми та відкладення вторинної оболонки часто залучені мембранні транспортери. Їхні гени характеризуються значною експресією в лігніфікованих тканинах деревини. Ці білки транспортери виявлені при накопиченні лігніну в деревині (Whetten et al., 2001) та в стеблі арабідопсису; гени транспортерів експресувалися одночасно з експресією генів ферментів біосинтезу лігніну (Ehltling et al., 2005). Такі транспортери характеризуються певним розподілом у залежності від типу тканини. Один білок транспортер із субродини В та три білка з родини G були ідентифіковані тільки в тканинах камбію та флоємі; тоді як білок транспортер із субродини В був специфічний лише для ксилеми, а його гомолог із *Arabidopsis* ABCB15 (MDR13) характеризувався певною кореляцією з генами біосинтезу лігніну на рівні транскрипції (Ehltling et al., 2005).

У ранніх роботах була висловлена думка, що процес окислення/дегідратація монолігнінів відбувається за участю пероксидаз (PRXs) (Harkin, Obst, 1973). Пізніше були виявлені й інші ферменти, зокрема, лакази та фенолоксидази, які, за думкою деяких авторів, також беруть участь в окисленні монолігнінів.

Клас Ш пероксидаз (КФ 1.11.17) відіграє суттєву роль у житті вищих рослин при адаптації до суходолу та до зміни радикалів у кисневому оточенні, зокрема, при формуванні перекису водню – субстрату для пероксидаз (Passardi et al., 2004). Ці пероксидази беруть

участь у лігніфікації та суберинізації оболонки, а також активуються при здерев'янінні та атаці рослини патогенами. Пероксидази Ш виявляються тільки в апопласті рослин, пероксидази II (КФ 1.11.1.13) – у клітинах грибів; пероксидази I (КФ 1.11.1.5 та 1.11.1.11) – у клітинах дріжджів, бактерій та грибів (Higara et al., 2001). Класи пероксидаз I та II характеризуються мол. масою 32-63, 43-49 кДа, відповідно, тоді як пероксидаза Ш має мол. масу 28-60 кДа (Higara et al., 2001). Родина пероксидаз Ш налічує 73 гени в *Arabidopsis thaliana* (Welinder et al., 2002) та 138 – у рисі (*Oryza sativa*) (Passardi et al., 2004). Пероксидази можуть модифікувати структуру клітинної оболонки (при полімеризації суберину) (Arrieta-Baez, Stark, 2006), при поперечному зв'язуванні таких структурних (не ферментативних) білків, як екстенсини (Jackson et al., 2001), при каталізі та формуванні зв'язків диферулової кислоти між полісахаридами, зв'язаними з лігніном чи залишками ферулової кислоти в полісахаридах (Fry, 2004), а також при утворенні гідроксирадикалів, що розсікають полісахариди оболонки (Schweikert et al., 2000).

Для пероксидази характерно п'ять ступенів окислення (рис. 1.5.4.4 вони подані в овальних формах). На окислення двох молекул субстрату використовується одна молекула перекису водню (рис. 1.5.4.4). Типовим є те, що клас Ш пероксидаз здатний окислювати широкий спектр фенольних компонентів, включаючи й монолігніни. Проте для різних пероксидаз характерна різна здатність до окислення монолігнінів. Так коніфероловий спирт досить легко окислюється пероксидазами, тоді як синаповий спирт є слабким субстратом для окислення пероксидазою, він окислюється за участю інших радикалів фенолів (Takahama, Oniki, 1994). Недавно Гомес Рос зі співавторами (Gomez Ros et al., 2007) ідентифікували гени пероксидази (*PalPrx08*, *SWPO-C*), що залучені до окислення синапового спирту при синтезі лігніну в клітинах культури тканини тополі. Автори показали роль фероцитохрому С, який, як вважають, бере участь в утворенні радикалів кисню при синтезі полімерів (Sasaki et al., 2004).

Пероксидази Ш, що окислюють синаповий спирт при формуванні лігніну виявлено у томатів (*Lycopersicon esculentum*) (Quiroga et al., 2000), в культурі клітин тополі (*Populus alba*) (Ayoama et al., 2002), *Zinnia elegans* (Gabaldo'n et al., 2005) та сріблястої груші (*Betula pendula*) (Marjamaa et al., 2006, a; 2006, b). Це дозволило авторам припустити, що неопосередкованим шляхом окислення синапового спирту пероксидазами відбувається за участі гему, для якого сайт вторинного субстрату окислення знаходиться на поверхні білка (Sasaki et al., 2008). *PalPrx08* містить два специфічних *Tyr* залишки (*Tyr-74* та *Tyr-177*), які за структурною моделлю виступають на поверхні білка біля гему, і таким чином можуть брати участь в електронному транспорті. Хімічна модифікація залишків *Tyr* у *PalPrx08* до 3-нітротирозину з тетранітрометаном (TNM) призводить до зниження окислення сингінгальдазину, димера синапового спирту, що запобігає окисленню фероцитохрому С, і залучає ці залишки до окислення значної кількості субстратів (Sasaki et al., 2008).

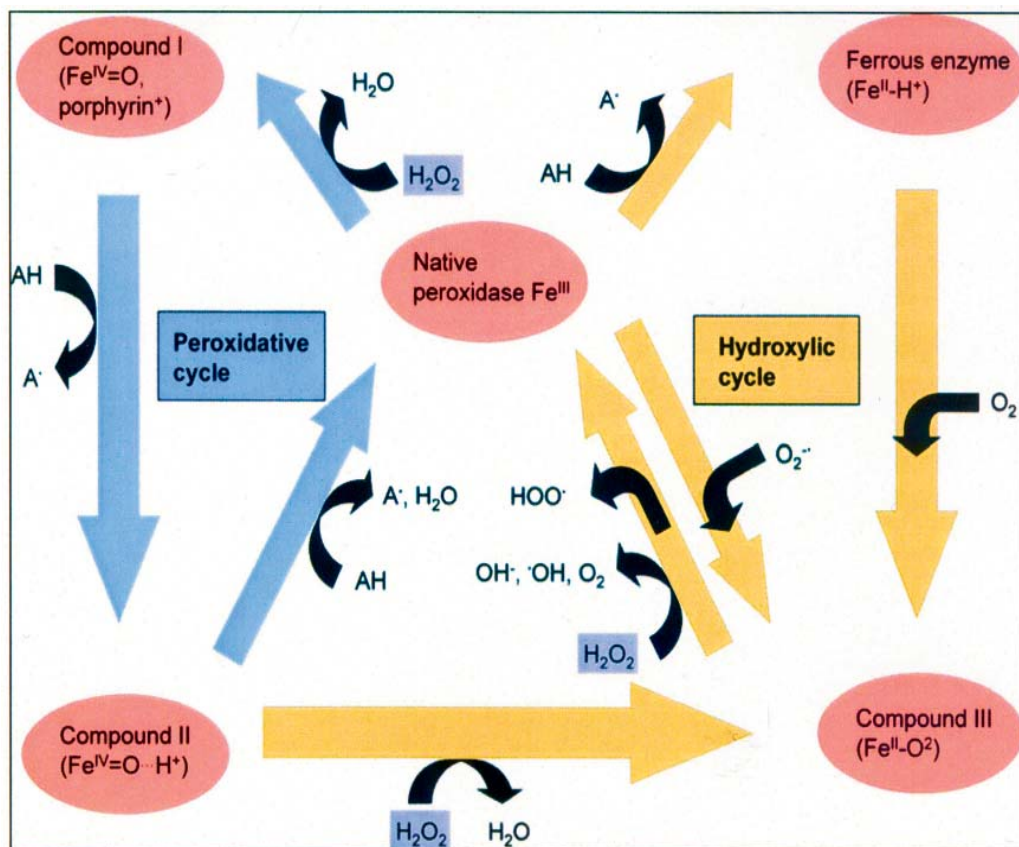


Рис. 1.5.4.4. П'ять стадій окислення (червоні овальні форми) пероксидази: нативна пероксидаза, компоненти I, II, та III, а також фермент, який містить іони заліза. Пероксидазний цикл (указано блакитними стрілками) – це домінуючий цикл при утворенні радикалів монолігнінів для полімеризації лігніну та використання H₂O₂ для окислення. Проте пероксидази здатні утворювати дуже реактивні вільні радикали в гідроксильному циклі, такі, як супероксиди кисню (O₂^{•-}), гідроксильні радикали (OH•) та гідропероксидні радикали (HOO•), які можуть окислювати оточуючі навколо молекули, наприклад, які також можуть бути використані і для захисних реакцій. AH – метаболізм (зниження) субстратів таких, як монолігніни. Каталітичні цикли пероксидази є адаптивними (Berglund et al. 2002; Liskay et al. 2003; Marjamaa et al. 2006, a)

На культурі клітин норвежської сосни (*Picea abies*) показано, що при інгібуванні пероксидази (шляхом зниження вмісту перекису водню) значно зменшується синтез лігніну в клітинах (Kärkönen et al., 2002). Однак, у трансгенних рослин тютюну при експресії гену *lbPrx04 (swpa4)* пероксидази активують формування перекису водню, що призводить до збільшення вмісту лігніну та фенолів (Kim et al., 2008). Механізм індукованої експресії генів пероксидази стимулює активацію та підвищення вмісту ферменту, при збільшенні вмісту відповідної мРНК за умов посилення здерев'яніння рослини чи при патогенезі;

при цьому у сигналізації цих процесів беруть участь АБК, етилен та жасмонова кислота (Higara et al., 2001).

Вміст перекису водню у клітинних оболонках знаходиться під контролем аскорбатоксидази; при її активації відбувається зниження синтезу лігніну (Ka`rko`nen, Fry, 2006; Ros Barcelo´ et al., 2006). Мішенями пероксидази також можуть бути структурні білки, екстенсини, залишки ферулової кислоти, на які діє пероксидаза, поперечно зв'язуючи полісахариди в оболонці, й, таким чином, зупиняє ріст розтягом клітинної оболонки (Brownleader et al., 2000; Fry, 2004). Підсумовуючи, ми бачимо, що клас пероксидаз Ш володіє потенційною функцією для синтезу лігніну, але інформація про каталітичні властивості, експресію та їхню локалізацію сильно відрізняється в різних пероксидаз у процесі лігніфікації (Marjamaa et al., 2006, a; 2006, b).

Регуляція синтезу лігніну

Регуляція синтезу лігніну відбувається за умов координованої експресії генів ферментів синтезу. Недавній прогрес в аналізі промоторів генів показав наявність певної регуляції. Фермент фенілаланінамонійліаза (phenylalanine ammonia-lyase, PAL) у голонасінних кодується однією копією генів (Subramaniam et al., 1993), тоді як у покритонасінних – невеликою родиною генів. Фермент 4-кумарат-КоА-ліаза (4-coumarate:CoA ligase, 4CL) у петрушки кодується двома високогомологічними генами (Douglas et al., 1987), у *Arabidopsis* – лише одним геном (Lee et al., 1995). Аналіз регуляторних властивостей промоторів PAL2 у ксилемі гороху та петрушки, а також *4CL-1* у ксилемі трансгенного тютюну показали, що функціонально резервні *cis* елементи локалізуються в проксимальній зоні відносно сайту, де починається транскрипція (Hatton et al., 1995; Hauffe et al., 1993; Leyva et al., 1992). Послідовність у PAL-промоторі (T)CCACCAACCCC (C) (ACII) містить негативний елемент, який пригнічує активність прихованого *cis*-елементу для експресії PAL у флоемі (Hatton et al., 1995, Leyva et al., 1992). Така послідовність зв'язана із консервативною ділянкою у численних промоторів PAL, виділених із гороху, петрушки та резушки Таля, які містять спільну послідовність CCA(A/C)C(A/T)AAC(C/T)CC (Lois et al., 1989). Подібний елемент виявлено й у негативно регульованій послідовності *4CL-1* (Hauffe et al., 1993). Таким чином, ці два ферменти у фенілпропаноїдному шляху синтезу лігніну регулюються координовано за допомогою негативного *cis*-елементу. Автори припускають, що в іншій тканині, а саме, у флоемі, необхідна наявність мотиву ACI у промоторі *PAL2* (Hatton et al., 1995).

Біосинтез вторинних клітинних оболонок, основним компонентом яких є лігнін, целюлоза та геміцелюлози, є високо координованим процесом, до якого залучено експресію генів, що також регулюються каскадом транскрипційних факторів (Rubin, 2008). Транскрипційні фактори – це білки, що функціонують кількісно, швидко та просторово для контролювання генів. Генетичний аналіз виявив значну кількість транскрипційних факторів, що контролюють розвиток оболонок у судинах (Yamaguchi, Demura, 2010). Гени транскрипційних факторів можуть переключати (включати та виключати) синтез складових вторинних оболонок, а саме: лігніну, целюлози та геміцелюлоз. Недавно при дослідженні розвитку

фібрил, судин та ендотецію пиляка, виявили кілька MYB та NAC транскрипційних факторів, які є ключовими перемикачами в регуляції біосинтезу клітинної оболонки (Zhou et al., 2009; Zhao et al., 2010). Транскрипційний фактор MYB розшифровується, як «mining yeast binding sites». NAC – це білки, що відносяться до найбільшої родини транскрипційних факторів, що включає три транскрипційні фактори: NAM (no apical meristem), ATAF1 (*Arabidopsis thaliana* transcription activator factor) та CUP2 (cup-shaped cotyledon). Ця родина білків відповідає за розвиток рослини, за відповідь на дію біотичних та абіотичних факторів, а також бере участь у гормональній сигналізації. NAC транскрипційні фактори (зокрема, NAM, ATAF1/2 та CUC2) є специфічними й характеризуються наявністю консервативного NAC домену, що локалізується в N-термінальній зоні, та дивергентного (розбіжного) C-домену активації (Olson et al., 2005). У *Arabidopsis thaliana* в геномі знайдено 114 NAC транскрипційних факторів (Zhong et al., 2010). Деякі з них відіграють різну роль у розвитку рослини та в її захисті (Olson et al., 2005; Ooka et al., 2003).

Недавні дослідження показали наявність підгрупи NAC транскрипційних факторів, зокрема: SECONDARY WALL-ASSOCIATED NAC DOMAIN PROTEIN1 (SND1, також названий NST3/ANAC012), NAC SECONDARY WALL THICKENING PROMOTING FACTOR1 (NST1), NST2, VASCULAR-RELATED NAC DOMAIN6 (VND6, та VND7), що функціонують на першому рівні переключення на запрограмований біосинтез вторинних оболонок (Zhong et al., 2010). SND1 є специфічним транскрипційним фактором для фібрил, тоді як VND6 та VND7 – для судин. При мутаціях SND1 та NST1 вторинні оболонки у фібрилах не формуються (Mitsuda et al., 2005, 2007), тоді як домінуюча репресія VND6 та VND7 блокує формування потовщення вторинних оболонок у судин (Kubo et al., 2005; Zhong et al., 2008). Висока експресія NACs (collectively called SWNs) у вторинних оболонках активує біосинтетичну програму, що призводить до утворення вторинних оболонок у паренхімі. Це дало змогу авторам припустити, що транскрипційні фактори SND1 та NST1 є головними регуляторами біосинтезу вторинних оболонок у фібрилах, а VND6 та VND7 – у вторинних оболонках судин. Дослідження формування вторинних оболонок у паренхімі *Arabidopsis*, що містять лігнін, целюлозу та ксилан показали, що основним регулятором такого синтезу є транскрипційні фактори MYB46 та MYB8 (Zhong, Ye, 2012). Крім того, багато робіт указують на те, що саме два останні транскрипційні фактори є регуляторами для синтезу вторинних оболонок у численних судинних рослин (McCarthy et al., 2010; Zhong et al., 2010).

Дослідження транскрипційної регуляторної мережі, що включає каскад транскрипційних факторів (рис. 1.5.4.5), залучених до біосинтезу лігніну, целюлози та геміцелюлозу у *Arabidopsis*, показало, що перемикачами процесів біосинтезу вторинних оболонок виступають MYB46 та MYB8, які регулюються SND1, гомологами NST1, 2, VND6 та VND7 (Pimrote et al., 2012). NACs (SWNs) виступають, як перемикачі синтезу лігніну – MYB58, MYB 63 та MYB85 (Demura, Ye, 2010); експресія MYB58 та MYB63 регулюється SND1 (Zhou et al., 2009).

Крім цього, знайдено, що *KNAT7*, один із семи генів *Arabidopsis* (*KNOTTED ARABIDOPSIS THALIANA*, *KNAT*), є прямою мішенню для обох транскрипційних факто-

рів (SND1 та MYB46), що переключають біосинтез вторинної оболонки (Ko et al., 2009; Legay et al., 2010; Zhong et al., 2008). Попередні дослідження показали, що при відсутності *KNAT7* у мутанта, відбувається збільшення товщини оболонки у фібрил, тоді як при експресії *KNAT7* спостерігаються протилежні події в оболонках. Ці результати показують, що *KNAT7* діє скоріше як транскрипційний репресор, ніж як активатор регуляції біосинтезу вторинної оболонки (Legay et al., 2010). До того ж, *KNAT7* взаємодіє з іншим транскрипційним ко-регулятором, а саме, із *OFP4*, який є членом родини білків (Ovate Family Protein, OFP), тобто обидва білки *OFP4* та *KNAT7* діють як транскрипційні репресори. Таким чином, показано, що *MYB75*, *KNAT7* та *OFP4* діють як негативні регулятори біосинтезу лігніну при формуванні вторинних клітинних оболонок.

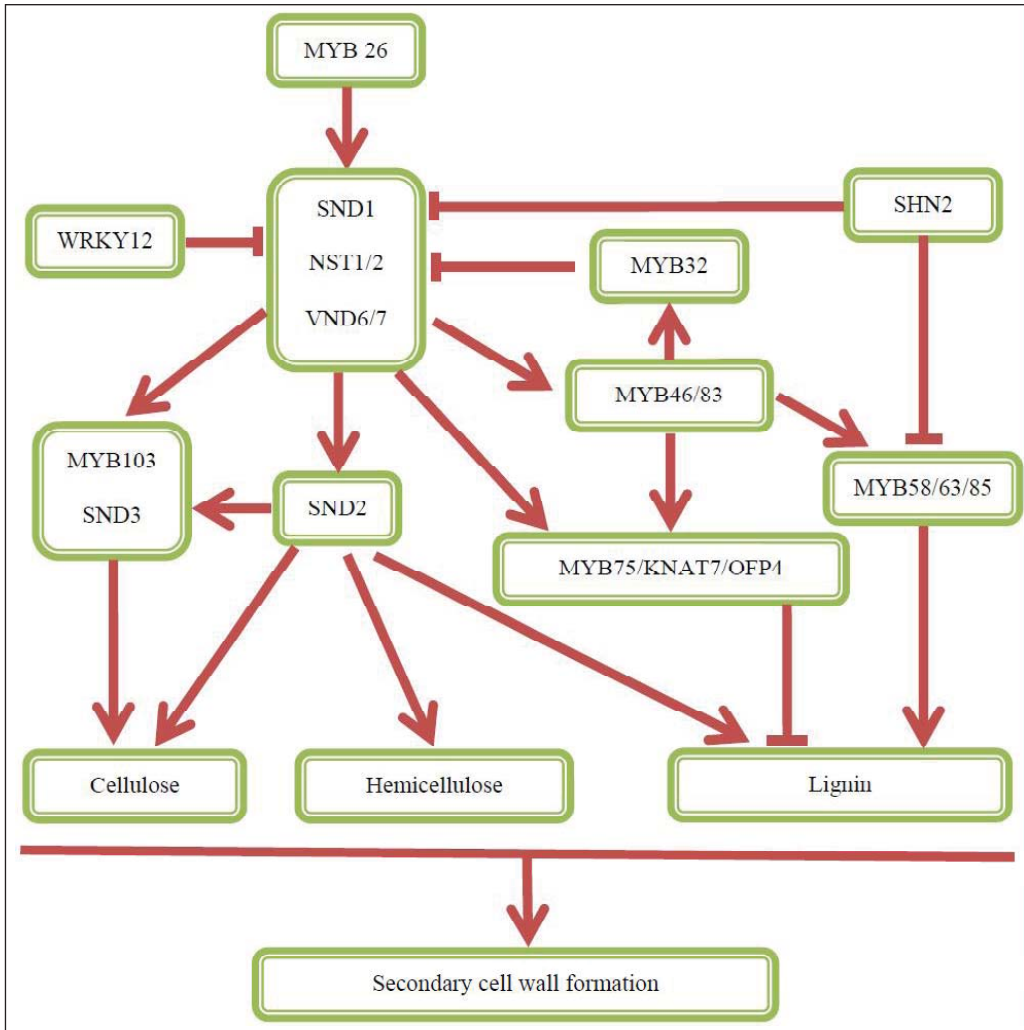


Рис. 1.5.4.5. Схематична модель транскрипційної мережі синтезу вторинних оболонок у *Arabidopsis*. Позначення транскрипційних факторів – в тексті (Pimrote et al., 2012)

Medicago truncatula також використовували як модельну систему для дослідження регуляції біосинтезу вторинних оболонок. Встановлено, що транскрипційні фактори *MtNST1* та *MtSTP* відіграють негативну роль у синтезі лігніну при формуванні вторинної клітинної оболонки (Zhao et al., 2010). Тобто, *AtWRKY-12* та *MtSTP* є справжніми гомологами, що функціонують, як контролери під час формування клітинної оболонки в серцевині.

Для дослідження біохімічних шляхів біосинтезу лігнінів та встановлення ролі певних генів, що прискорюють чи пригнічують роботу ферментів під час синтезу окремих монолігнінів, використовують рослини з генетичними модифікаціями біосинтезу складових лігнінів (Reiter, 1998). Так, у тютюну при репресії генів для CAD та CCR (CAD – cinnamyl alcohol dehydrogenase; CCR – cinnamoyl Coenzyme A reductase) спостерігається зниження синтезу вмісту лігніну (Ralph et al., 1998), зокрема, зниження гваяцил та сирінгіл складових та збільшення вмісту бензоальдегідів, шинаматальдегідів та продуктів їхнього окислення. Репресія CCoAOMT (CCoAOMT – caffeoyl-coenzyme A -O methyltransferase) змінює фенотип та знижує вміст сирінгілових одиниць. У деяких мутантів може змінюватися лише склад лігніну. Трансгенні рослини по COMT (caffeic acid O-methyltransferase) та CCOMT (кафеол-КоА-3-О-метилтрансферазі) показують зниження вмісту лігніну та його гваяцилових складових, але не змінюють вміст сирінгілових складових (Guo et al., 2001). Одна з головних проблем – це з'ясування регуляції синтезу, коли один чи кілька генів інгібують регуляцію, проте інші гени можуть активувати ці процеси, а в результаті важко оцінити їхню дію на регуляцію синтезу лігніну.

1.6. КАЛОЗА

Калоза – лінійний аморфний полісахарид клітинної оболонки, що утворюються кількома сотнями залишків глюкози, з'єднаних в основному β -1–3–глюкозидними зв'язками (рис. 1.6.1) та 1,6–зв'язками, які можуть формувати незначні галуження (Hong et al., 2001, а; 2001, б). Цей глюкан може утворювати гвинтовидну структуру (Pirselova, Matusikova, 2012). Калоза відіграє ключову роль у міжклітинному водному транспорті, рості та диференціації клітин, захисті клітин при біотичних та абіотичних стресах (Xie, Hong, 2011; Дмитриев, 2000). Калоза рослинних клітин за структурою подібна до β -глюкану бактерій (curdlan), водоростей (paramylon), грибів і лишайників (rhamnan, lichenan). У різних типах клітинних оболонок цей полісахарид відрізняється за структурою, молекулярною масою та типом генів, що експресують калозосинтетазу (Chen, Kim, 2009).

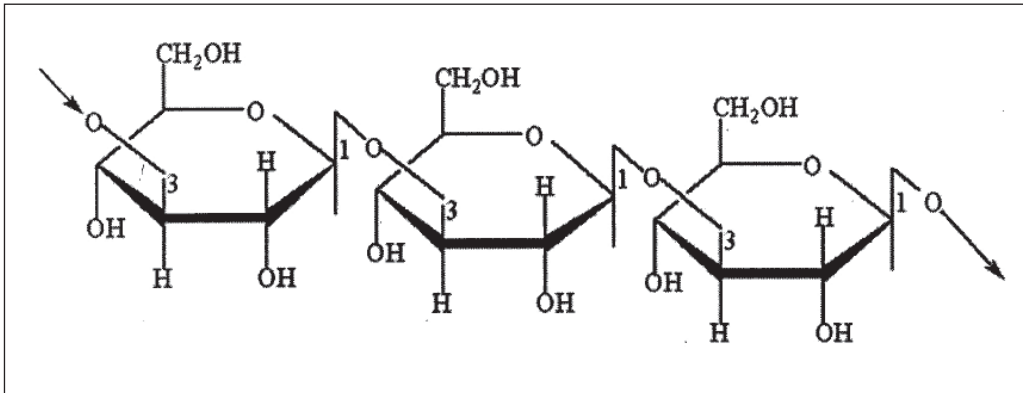


Рис. 1.6.1. Загальний вигляд частини молекули калози, що складається із залишків глюкози, з'єднаних β -1–3–глюкозидними зв'язками

Калоза використовує для свого синтезу такі субстрати, як УДФ-глюкозу та сахарозу, що було встановлено при застосуванні радіоактивної UDP-[U- 14 C]-глюкози в умовах *in vitro* (Cifuentes et al., 2010). Вона синтезується не в усіх клітинних оболонках, її синтез в рослині є тканино специфічним як в листках, так і коренях (Wissemeier, et al. 1992; Sivaguru et al. 2000). Найчастіше, незалежно від типу клітин чи тканин у нормі або при стресі, калоза починає синтезуватися в «певній точці» поверхні цитоплазматичної мембрани, формуючи невеликі різної форми калозні центри, які за оптимальних умов синтезу сильно розростаються (Vaughn et al. 2007).

При дослідженні калози в люмінесцентному мікроскопі (при ультрафіолетовому опроміненні) цей полісахарид флуоресціює жовто-зеленим кольором, що індукується флуорохромом – аніліновим синім (рис. 1.6.2, а) (Недуха, 2014). При дослідженні в електронному

мікроскопі (на ультраструктурному рівні) калоза має однорідну, світлу, майже електроннопрозору структуру, в якій нема фібрилярних чи ламелярних структур (рис. 1.6.2, б) (Недуха, 1994). Товщина калозного шару може відрізнятися в залежності від типу клітин та тканин. Калоза може локалізуватись по всій оболонці або ж у окремих її ділянках. (Koh et al., 2012).

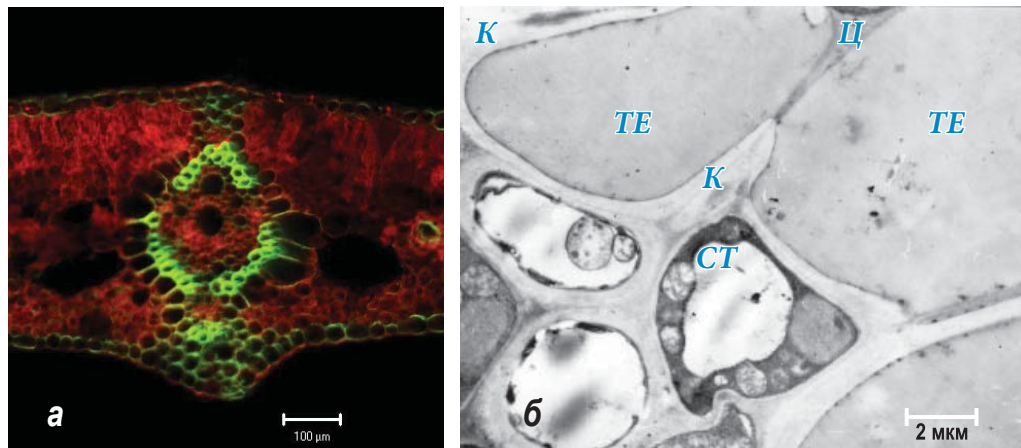


Рис. 1.6.2. *а* – Зріз надводного листка *Sagittaria sagittifolia* після інубації в розчині анілінового синього (комплекс калоза + аніліновий синій флуоресцює зеленим кольором), автофлуоресценція хлорофілу має червоний колір (Недуха, 2014); *б* – фрагменти клітин провідного пучка листків 16-денних проростків пшениці. В клітинних оболонках трахеальних елементів та ситовидних трубок калоза має світлу електроннопрозору структуру (Недуха, 1994). Позначення: К – калоза, Ц – целюлоза, ТЕ – трахеальний елемент, СТ – ситовидна трубка. Реперна мітка: рис. *а* = 100 мкм; рис. *б* = 2 мкм

Калоза у фрагмопласті. Калоза синтезується під час формування клітинної пластинки в процесі цитокінезу. Трубочастоподібні везикули, заповнені калозою, з'єднуються в центрі фрагмопласту (Samuels et al., 1995). Після цього, калоза швидко деградує, і замінюється целюлозою, як тільки клітинна пластинка починає рости і зливатися з батьківською клітинною оболонкою (Verma, 2001). На синтез калози в клітинній пластинці можуть впливати мікротрубочки, які направляють везикули Гольджі, заповнені калозою та білком фрагмопластином (Yasuhara, 2005), що було підтверджено інгібіторним аналізом на суспензійній культурі клітин *Arabidopsis thaliana* та *Nicotiana tabacum* (BY-2) (Aidemark et al., 2009). Везикули із фрагмопластином транспортуються вздовж мікротрубочок до клітинної пластинки; фрагмопластин взаємодіє з УДФ-глюкозилтрансферазою, яка, як вважають, є частиною калозосинтезуючого комплексу (Hong et al., 2001,a; 2001,b).

Калоза в плазмодесмах та ситовидних порах. Калоза відкладається в плазмодесмах паренхімних та меристематичних клітин листків і стебел для контролювання транспорту молекул й регуляції симпластного транспорту (Chen, Kim, 2009). Калоза, стискуючи плазмодесми, може зупиняти міжклітинний транспорт (Rinne et al. 2001; van der Schoot, Rinne 2011), що є сигналом для змін у рості клітин. Крім того, при закритті плазмодесм калозою, відбувається симпластична ізоляція клітин, що призводить до підвищення тургорного тиску та сприяння повздовжньому росту клітин, що було показано на клітинах фібрил стебел бавовнику (Ruan et al. 2004). Формування калози в плазмодесмах схоже на біогенез калози в порах ситовидних трубок, в яких калоза відкладається восени при закритті пор, а весною при відкритті пор вона починає лізувати (Krabel et al. 1993).

Відомо, що при диференціації ситовидних трубок флоєми спочатку в оболонках утворюються плазмодесми, які згодом руйнуються, й на їхньому місці утворюються ситовидні пори. Дослідження ролі калози в цьому процесі показало, що вона спочатку відкладається навколо плазмодесм, після їхньої деструкції утворюється пора, оточена калозою, яка відіграє суттєву роль у регуляції транспорту через симпласт (Xie, Hong, 2011; Zavaliev et al. 2011). Калоза залучається не тільки до формування пор у ситовидних пластинках, але до їхнього закриття. Саме таким чином цей полісахарид відіграє важливу роль у внутрішньоклітинній комунікації органів та тканин рослини (Xie, Hong, 2011).

Локалізація калози в оболонках замикаючих клітин продихів. Калозу виявлено в оболонках замикаючих клітин продихів покритонасінних та папоротей (Apostolakos, Galatis, 1998; Shetty et al., 2009). Відомо, що продихи регулюють газообмін між надземними органами та навколишнім середовищем і відіграють критичну роль у водному статусі та фотосинтезі. Синтез калози відбувається під час росту та диференціації замикаючих клітин продихів. Відкладення калози в зоні диференціації оболонок пори, що утворюють замикаючі клітини продихів *Asplenium nidus* та *Ophioglossum petiolatum*, відбувається у формі радіальних пучків, розташованих паралельно напрямку мікрофібрил целюлози (Peterson, Hambleton, 1978; Apostolakos et al., 2009; 2010). Синтез і деградація зовнішніх периклінальних оболонок продихів співпадає із синтезом та деградацією калози в оболонках, що формують пору продиху.

Локалізація калози в клітинах генеративних органів. В процесі мікроспорогенезу, на початку профазі, калоза починає відкладатися у оболонках материнських клітин мікроспор. На протязі мікроспорогенезу процес синтезу калози поступово прогресує і досягає максимуму на стадії формування тетрад, в результаті чого оболонка кожної мікроспори містить товстий калозний шар. При вивільненні сформованих мікроспор із тетрад калоза лізує (Барская, Балина, 1971; Попова и др., 2008). Порушення синтезу калози при мікроспорогенезі призводить до суттєвих відхилень у формуванні чоловічого гаметофіту (Dybos et al., 1990). При гаметогенезі калоза в оболонках мікроспор набрякає й, таким чином, утримує воду, знижує проникність оболонки (Vithanage et al. 1980) і захищає мікроспори від дії навколишнього середовища.

Калоза також виявляється і в насінні. Показано, що через 35 діб після початку цвітіння *Cucumis melo* навколо ендосперму формується клітинна оболонка, що складається з калози. Під час попадання насіння у воду така оболонка легко пропускає воду, сприяючи осмотичному розтягу. Якщо ж на насіння подіяти ферментом β -1,3-глюканазою, що лізує калозу, то клітинна оболонка втрачає здатність до осмотичного розтягу (Yim Куу-Оск, Bradford, 1998). Це свідчить про участь калози в розтязі клітин.

Функції калози. Функції полісахариду калози різноманітні, вони залежать від місця її локалізації в клітині та типу тканини. У плазмодесмах та ситовидних порах калоза регулює транспорт води та водних розчинів між клітинами (Xie , Hong 2011), у замикаючих клітинах продихів вона бере участь у відкритті та закритті продихів (Apostolakos et al., 2010).

При патогенезі аморфна калоза, формуючи калозний корок в клітинах епідермісу, стає бар'єром між патогеном та клітиною-хазяїна, рослинна клітина використовує калозу як «замазку», що розтікається (*leak sealant*) в зоні дії патогену на оболонки клітини-хазяїна (Currier, 1957).

Калоза, аналогічно до целюлози, відіграє й механічну роль у клітинах, що було показано на оболонках проростаючих пилкових трубок. Пилкова трубка ззовні містить 2-3 шари пектоцелюлозної оболонки, внутрішній шар якої є калозним. Така оболонка стійка до розтягу та компресуючого стресу (Taylor, 1997). Дослідження механічних функцій калози проводили під час дії різноманітних стресів із використанням ферментативного лізису калози в пилкових трубках *Solanum chacoense* та *Lillium orientalis* (Parre, Geitmann, 2005). При ферментативному видаленні калози у пилкових трубках збільшувалася їхня незгинність до 177 ± 14 %. Автори прийшли до висновку, що калоза відповідає за гнучкість клітин, володіє стійкою здатністю до напруженості та стиснення під час механічного стресу, тобто цей полісахарид знижує твердість та збільшує еластичність клітинних оболонок (Parre, Geitmann, 2005). Оскільки у воді калоза набрякає в кілька разів, то у такому стані вона через щільне стуляння гідратних оболонок слабо пропускає воду, тоді як іони кальцію викликають зворотний ефект – розслабляють стиснення глюкану та підвищують здатність оболонки до транспортування водних розчинів. Подібні ефекти відбуваються і при різких змінах оптимальної для рослини температури (Курсанов, 1976).

Регуляція синтезу калози. Регуляція синтезу калози привертає увагу багатьох учених, тому що цей полісахарид відіграє суттєву роль у захисті рослини при дії різних стресорів. Механізм накопичення калози контролюється різноманітними сигнальними шляхами в залежності від оточуючих умов або ж від дії патогенів (Luna et al., 2011). Важливим компонентом сигналізації до синтезу калози в деяких рослин виявилися іони кальцію та вакуолярний глюкозидний активатор, β -фурфурил- β -глюкозид (Kauss, Jeblick 1991; Ohana et al. 1993).

Використовуючи біохімічні методи дослідження кінетики ферменту 1,3- β -D-глюкансинтетази на мембранній фракції з проростків *Beta vulgaris* встановлено оптимум

активності цього ферменту (pH 7,5) і виявлено, що його активність залежить від двовалентних катіонів (Kauss, 1985). При додаванні в середовище 1 мМ CaCl₂ активність калозосинтетази збільшувалася у 50 разів. Такі катіони, як Mg²⁺ та Mn²⁺ (1-3 мМ), збільшували активність тільки на 30 %, тоді як K⁺ – удвічі (Kauss, Jeblick, 1986). Показано, що хелатори іонів кальцію (ЕДТА, ЕГТА), солі лантану, а також ненасичені жирні кислоти інгібують активність калозосинтетази (Bacic et al. 1988).

Синтез калози безпосередньо залежить від складу глікозидів у середовищі, що було доведено на фракції мембран з клітин буряка. Збільшення синтезу глюкана в кілька разів залежало від типу глікозиду. Встановлена наступна послідовність активності глікозидів в синтезі калози: ламінарибоза > целобіоза > гентобіоза > метилглюкозид > глюкоза > мальтоза > лактоза. Припускають, що ці цукри відіграють певну роль у подовженні ланцюгів калози з нередукованого кінця (Marrow, Lukas, 1986).

Вивчаючи індукцію біосинтезу 1-3-β-глюкана на культивованих клітинах сої, дослідники встановили, що при дії на них таких поліамінів, як спермін, спермідин, полі-L-орнітин, цитозан, хітозан або полі-L-лізин, починається посилений відтік з клітин полікатіонів і вхід у клітину Ca²⁺, при цьому дуже різко посилюється синтез калози (Kauss, 1985). Припускають, що активація відбувається на внутрішній поверхні плазмалеми, де поліаміни взаємодіють із Ca²⁺, який активує 1,3-β-D-глюкансинтетазу.

За допомогою міченої (U-¹⁴C)-сахарози в концентрації 5 · 10⁻⁶ М на волокнах бавовника *Gossypium arboreum* показано, що фітогормони (у концентрації 5-50 · 10⁻⁶ М) діють порізному на синтез калози: АБК – стимулює загальне включення як у калозу, так і в целюлозу, тоді як ІОК і гіберелова кислота не діють на включення мітки в синтезовану калозу, кінетин же злегка інгібує синтез калози (Pillonel, Meier, 1985).

Крім цього, рН цитоплазми також впливає на цей процес. Підвищення синтезу калози в клітинах суспензійної культури ячменю проявлялося при зниженні рН цитоплазми і супроводжувалося виходом β-фурфурил-β-глюкозиду з вакуолі, в якій він акумулювався (Ohana et al. 1993). Величина рН, як і вміст іонів кальцію в цитоплазмі змінюють конформацію та активність калозосинтетазного комплексу, що приводить до збільшення синтезу калози (Kauss, Jeblick 1991).

Зміни в складі фосфоліпідів цитоплазматичної мембрани можуть виступати ефектором синтезу калози (Kauss, Jeblick 1986; Schrick et al. 2004). Недавно показано, що сильне освітлення, фітогормони та вторинні метаболіти (при патогенній атаці) також активують синтез калози (Flors et al. 2005; Kaliff et al. 2007).

Припускають, що плазмалема має постійний рівень неактивної калозосинтетази, яка активується лише при стресі (Chen, Kim 2009). Перші відклади новосинтезованої калози спостерігаються дуже швидко (від кількох хвилин до кількох годин) після початку дії індуктора (Nakashima et al. 2003). З іншого боку, деструкція калози може починатися також через 5–10 хвилин після початку пошкодження тканини (Nakashima et al. 2003), або ж через кілька днів після вторгнення патогена (Botha, Matsiliza 2004).

Швидкий синтез та деградація цього полісахариду вказує, що його синтез регулюється на рівні білків, тобто відбувається вивільнення чи зв'язування окремих одиниць калозосинтезуючого комплексу замість його синтезу *de novo* (Saheed et al. 2009). В інтактних клітинах калоза локалізується в певних ділянках оболонки. Проте при стресі клітини можуть формувати цей полісахарид по всій поверхні клітини. При хімічній індукції швидкість відкладення калози може бути різною; припускають, що плазмалема під час індукції синтезу калози під дією хімічних речовин чи іонів може руйнуватися. У вищих рослин та водоростей під час стресу відбувається посилений синтез калози, що свідчить про досить високий консервативний механізм регуляції активності калозосинтезуючого комплексу (Bacic et al. 1988).

Калозосинтезаза. Синтез калози каталізується комплексом ферментів, які зв'язані з цитоплазматичною мембраною (рис. 1.6.3) (Verma, Hong, 2001; Pirsellova, et al., 2012). Ключовий компонент ферментативного комплексу – це каталітична субодиниця, яка відома як калозосинтезаза (CalS; КФ 2.4.1.34; УДФ-глюкоза: 1,3- β -D-глюкозилтрансфераза) (Li et al. 1993; Xie et al., 2011). Інші компоненти ферментативного комплексу включають УДФ-глюкозотрансферазу (UGT1) (Hong et al. 2001, a) та сахарозосинтезазу (SuSy) (Amor et al. 1995), які забезпечують клітину УДФ-глюкозою для синтезу калози. УДФ-глюкозотрансфераза зв'язується з іншим білком, який названо Rop1 (Hong et al. 2001, b). Комплекс калозосинтезази також містить білок анексин (Andrawis et al. 1993), який переключає синтез калози на синтез целюлози в залежності від вмісту іонів кальцію (Verma, Hong 2001). Базуючись на седиментації очищеної калозосинтезази, показано наявність ще кількох білків, зв'язаних із калозосинтезазою (Hong et al., 2001, b). Функції цих білків полягають у контролі активності калозосинтезази, зокрема, у відповідь на біотичні та абіотичні сигнали.

Відомо, що калозосинтезаза зв'язується з мембранним білком, який дуже схожий на анексин та протеїнкіназу C (Andrawis et al., 1993). Такий анексин-подібний білок має GTPазну активність, яка інгібується Ca^{2+} та стимулюється Mg^{2+} (Thin, Brown, 1999). Проте рекомбінантний анексин не впливає на активність CalS, яка регулюється іонами магнію. Відомо, що Rop1 може також просторово активувати CalS; фрагмoplastин активує цей фермент шляхом ущільнення везикул до утворення трубок у процесі формування клітинної пластинки (Gu, Verma, 1997; Zhang et al., 2000; Verma, Hong, 2001). Допоміжне зв'язування білків може відбуватися шляхом специфічного зв'язування з гідрофільним доменом CalS або ж із пролін-збагаченим доменом у зоні N-кінця. Подальша фрагментація різних зон у гідрофільному шлейфі білка калозосинтезази необхідна для встановлення точної топології комплексу, визначення функції кожного домену та їх функціонального зв'язку в калозосинтезуючому комплексі.

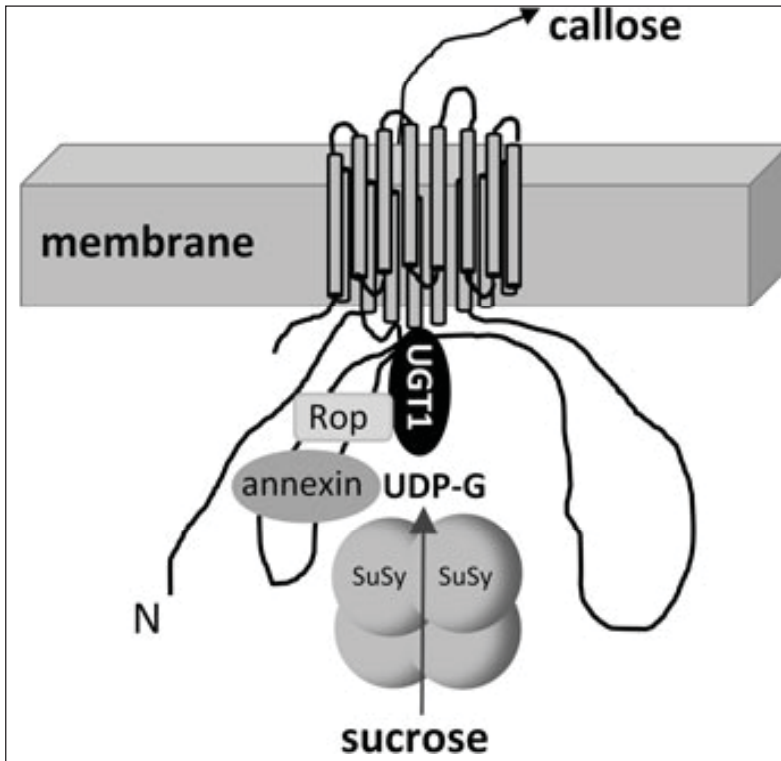


Рис. 1.6.3. Модель калозосинтезного комплексу рослин. Субодиниці калозосинтетази містять 16 трансмембранних фрагментів («завитків»), які згруповано у дві зони, що розділені між собою центральною петлею. Комплекс також містить УДФ–глюкозотрансферазу, сахарозосинтетазу та анексин. Протеїнкіназа та невеликий Rho–подібний білок разом з GTP–азою також можуть відігравати регуляторну роль у синтезі калози (Pirselova, et al., 2012)

Встановлено, що частково очищена калозосинтетаза містить 6-9 основних поліпептидів з мол. масою від 25 до 92 кДа (Kamat *et al.*, 1992; Dhugga, Ray, 1994; McCormack *et al.*, 1997). Список компонентів калозосинтезного ферментативного комплексу постійно збільшується, він залежить від клітинної локалізації та типу калозосинтетази. Тому існує кілька моделей складу калозосинтезного комплексу (Pirselova, et al., 2012; Hong *et al.*, 2001, b). Згідно моделі Хонга із співавторами (Hong *et al.*, 2001, b) фермент калозосинтетаза 1 – це трансмембранний білок, що містить кілька консервативних ділянок (рис. 1.6.4.). На N-гідрофільному кінці, що має у своєму складі 481 амінокислоту, відсутня сигнальна розщеплююча послідовність. Припускається, що гідрофільна N-кінцева ділянка калозосинтетази1 знаходиться в цитоплазмі. Трансмембранні домени, що зібрані у дві зони й розділені великим гідрофільним доменом (779 амінокислот), повернуті до цитоплазми. Останній домен («шлейф»), зв'язаний із трансмембранними спіралями, є відносно коротким (від 3 до 54 залишків) (Mio *et al.*, 1997; Thompson *et al.*, 1999).

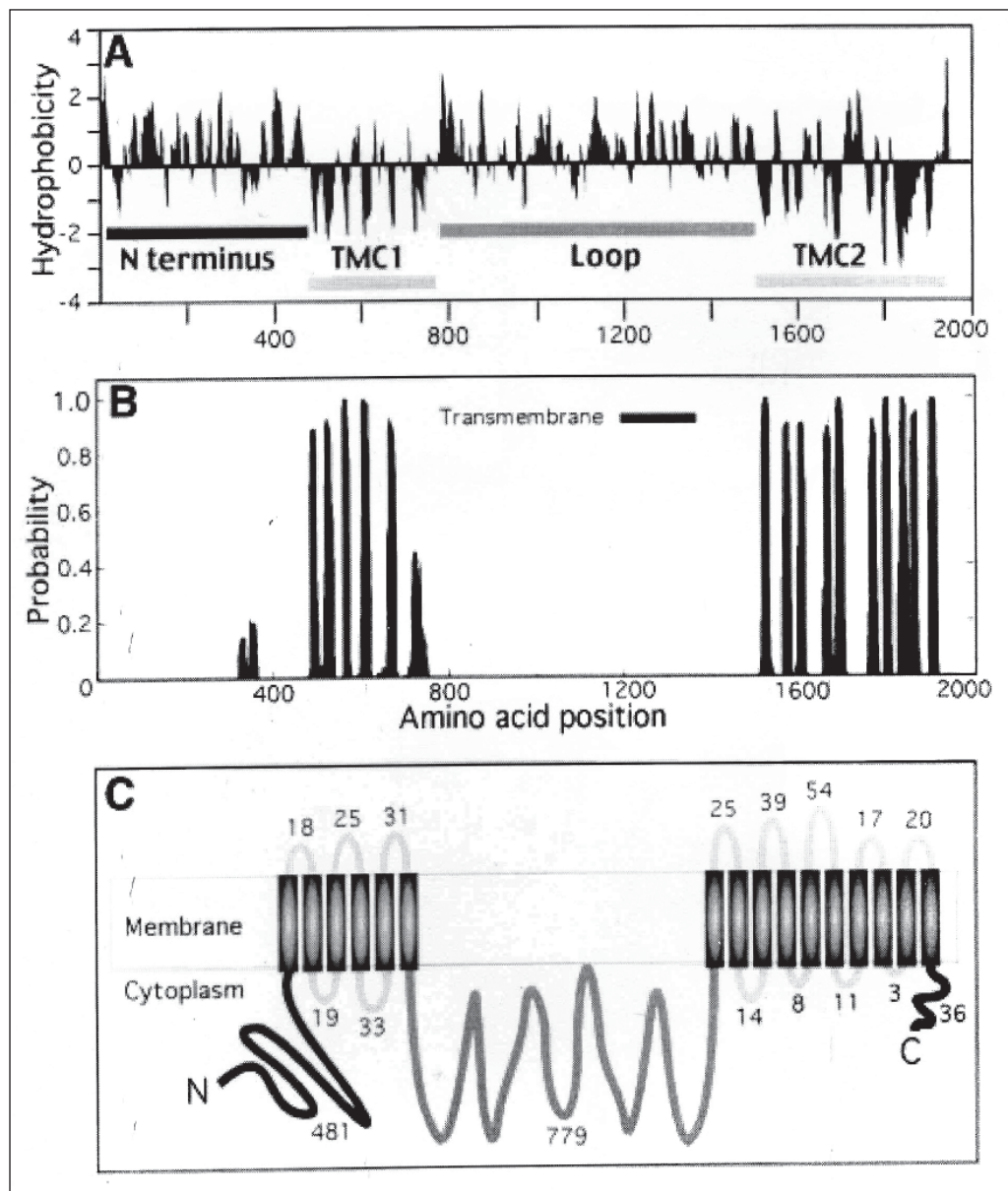


Рис. 1.6.4. Модель ферменту калозосинтетази 1 (CalS1).

A – Гідрофобна залежність калозосинтетази, що була встановлена методом Kyte-Doolittle. TMC1 та TMC2 – це трансмембранні кластери 1 та 2.

B – Модельна схема трансмембранної спіралі згідно програми TMHMM.

C – Схема структури CalS1 в мембрані. Довгий прямокутник указує на мембрану. Вертикальні чорні мітки – це трансмембранні спіралі ферменту CalS1. Цифри в кожного немембранного сегменту вказують на кількість амінокислотних залишків у пептидному ланцюзі (Hong et al., 2001, b)

Враховуючи, що калоза синтезується в різних органах рослини (Stone, Clarke, 1992), а також те, що цей фермент відповідає на сигнали розвитку рослини та сигнали стресу, дослідники припускають існування численних ізоформ ферменту.

Той факт, що всі рослини, включаючи і водорості, на дію поранення відповідають утворенням калози (Scherp *et al.*, 2001), допускає наявність законсервованого сигнального шляху, який регулюється комплексом CalS. Регуляція індукції CalS при пораненні опосередкована G-білками, для яких відома послідовність гену *AtCalS1* (Hong *et al.*, 2001, а). Кілька молекул анексину, які відповідають на зміни кальцієвого балансу, зв'язані з калозосинтезазою (Andrawis *et al.*, 1993).

У рослинних тканинах встановлена наявність двох типів калозосинтетази, один з яких регулюється іонами кальцію, а для другого – кальцій непотрібний (наприклад, у пилкових трубках) (Li *et al.*, 1997; Schlupmann *et al.*, 1993), тобто другий тип калозосинтетази – нечутливий до кальцію. Очевидно, що ці два типи ферменту відіграють певну роль у переключенні ферменту на синтез целюлози під час формування клітинної пластинки (Samuels *et al.*, 1995; Verma, 2001) та при пораненні, коли необхідно залучення Ca^{2+} -чутливого білка.

Відомо, що різні ізоформи калозосинтетази експресуються у різних тканинах, і це дає можливість припустити, що ферментні комплекси калозосинтетази та целюлозосинтетази настроюються на структурні та біохімічні потреби для кожної спеціалізованої тканини. Обидві родини білків калозо- та целюлозосинтетази подібні за мембранною локалізацією, що необхідно для синтезу та відкладання таких полімерів, як калоза та целюлоза. Сайт для зв'язку між різними регуляторними білками, за довжиною пептиду калозосинтетази, зокрема, гідрофільний домен (шлейф) значно більше у пептида калозосинтетази. У гідрофільному шлейфі сайту, саме в зоні N-терміналу, який також є гідрофільним, знаходяться кілька сайтів глікозування та фосфорилування. Допускають наявність численних сайтів для глікозування на UGT, який діє, як субодиниця калозосинтетази. Так як UGT1 та SuSy не є трансмембранними доменами, вони також можуть бути зв'язані із калозосинтезазою специфічним зв'язком на гідрофобному шлейфі (Wu *et al.*, 2000; Holland *et al.*, 2000; Doblin *et al.*, 2001).

Гени, що кодують калозосинтезазу. Дві незалежні групи вчених (Verma, Hong 2001; Richmond, Somerville 2001) майже одночасно ідентифікували 12 генів калозосинтетази в *Arabidopsis thaliana* (табл. 1.6.1) та встановили номенклатуру для цих генів, більшість, з яких походять від слів, подібних до глюкансинтетази («glucan synthase-like»), а саме до AtGSL1–AtGSL12). У той же час, пізніша номенклатура маркувала AtCalS1–AtCalS12, базуючись на назві генів калозосинтетаза «callose synthase» (Chen, Kim, 2009). Ці гени експресували у різних рослин та різних типів тканин в залежності від стадії розвитку та біотичного чи абіотичного стресів. У роботах (Jacobs *et al.* 2003; Huang *et al.* 2009) були охарактеризовані функції та ознаки певних генів та їх транскриптів.

ТАБЛИЦЯ 1.6.1. **Гени калозосинтетази, їх локалізація, функції калози в рослинних клітинах** (Hong et al., 2001,а; Chen, Kim, 2009)

| Ген калозосинтетази | Локалізація калози в клітині чи тканині, функція | Автор |
|--|---|---|
| <i>CalS1 (Gs1-6)</i> <i>CalS2 (Gs1-3)</i> | Цитокінез | Hong et al., 2001, а; 2001 b. |
| <i>CalS3 (Gs1-12)</i> | Апертура плазмодесм, сигналізація | Chen, Kim, 2009; Vaten et al., 2011. |
| <i>CalS4 (Gs1-9)</i> <i>CalS5 (Gs1-2)</i> | Розвиток пилку, ріст пилкової трубки, участь в транспортних процесах, еластичність оболонок | Dong et al., 2005; 2008; Nishikawa et al., 2005. |
| <i>CalS6 (Gs1-11)</i> <i>CalS7 (Gs1-7)</i> | Ситовидні пори, при патогенезі, флоемний транспорт та захист клітин | Xie, Hong , 2011; Jacobs et al., 2003. |
| <i>CalS8 (Gs1-4)</i> | Утворення фібрил у рослин бавовника, участь в рості клітин | Chen, Kim, 2009. |
| <i>CalS9 (Gs1-10)</i> <i>CalS10 (Gs1-8)</i> | Чоловічий гаметогенез, цитокінез, продири, транспортні функції, міжклітинний зв'язок | Thiele et a., 2008; Huang et al., 2009; Chen et al., 2009; Guseman et al., 2010 . |
| <i>CalS11 (Gs1-1)</i> | Розвиток пилку у тетрадах | Enns et al., 2005 . |
| <i>CalS12 (Gs1-5)</i> | Розвиток пилку, захист клітин при патогенезі та пораненні | Nishimura et al., 2003; Dong et al., 2008. |
| <i>FKS1</i> | Захист клітин при патогенезі | Chen, Kim, 2009 . |

На початку досліджень припускали, що цей фермент (чи ферменти) синтезують калозу та целюлозу (Jacob, Northcote, 1985), пізніше було показано, що для синтезу калози необхідний кальцій або фосфорилування (Lukowitz et al. 2001; Nakashima et al. 2003), а також наявність різних ферментів (Henrissat et al. 2001; Lukowitz et al. 2001; Farrokhi et al. 2006).

Хонг зі співробітниками вважають, що дванадцять генів калозосинтетази розподілені в п'яти хромосомах арабідопсису. Базуючись на структурі гену їх можна розділити на дві групи. Гени першої групи містять від 40 до 50 екзонів і кодують пептиди, що містять 1923–1956 амінокислотних залишків. Гени другої групи, що зв'язані із *CalS11* та *CalS12*,

мають тільки 2–3 екзони і кодують пептиди, які містять менше ніж 170 амінокислотних залишків на N–кінці. CalS11 та CalS12 є більш подібними, ніж інші ізоферменти калозосинтетази. *CalS1* характеризується високою гомологією (до 92%) з *CalS2*, і, можливо, що ці два гени функціонують, як дублікати (Hong et al., 2001, a).

Найкраще вивчено гени *Gs1–7* та гени *CalS1*, які беруть участь у синтезі калози в ситовидних порах флоєми та у новоствореній при цитокінезі клітинній оболонці, відповідно (Barratt et al., 2011; Hong et al., 2001, a). Зокрема, *CalS7* є унікальним членом родини генів калозосинтетази, що відповідає за синтез калози в оболонках та порах флоєми (Xie, Hong, 2011; Barratt et al., 2011). Показано, що у дикого типу *Arabidopsis thaliana* після початку перфорації флоєми калоза починає відкладатися навколо первинної клітинної оболонки і в серединній пластинці; тоді як у мутанта по відповідному гену (*Gs1-7*) здатність до синтезу калози втрачена в плазмодесменних порах і на початку перфорації ситовидних елементів. У цього мутанта калоза не утворювалася навіть при пораненні (Xie, Hong, 2011). Вважається, що саме калоза регулює флоємний транспорт асимілятів через пори ситовидних трубок флоєми. Це було доведено з використанням радіоміченого по оксиду вуглецю ($^{14}\text{CO}_2$), зокрема, при дослідженні флоємного транспорту в стеблах та гіпокотиллях арабідопсису (Xie Hong, 2011; Barratt et al., 2011).

Дослідження гену *CalS1*, що відповідає за синтез калози у фрагмопласті клітин арабідопсису, за допомогою міченого зеленого флуоресцентного білка, що маркував калозосинтетазу 1 (CalS1), дало можливість ідентифікувати наявність ферменту – УДФ–глюкозотрансферази 1 (UGT1), що зв'язана із фрагмопластом (Hong et al., 2001, a). Ген *UGT1* є локусом кодону, який кодує калозосинтетазу (CalS1), що показує гомологію із каталітичною субодиницею FKS1–1,3–глюкансинтетази дріжджів (Douglas et al., 1994). Відстань між кодуючими зонами *CalS1* та *UGT1* становить усього 650 bp і містить лише 3–9 нетрансльованих зон. Припускають, що під час цитокінезу експресуються два гени, і що саме калозосинтетаза 1 може бути специфічним ферментом для клітинної пластинки. Автори встановили, що CalS1 фактично є субодиницею комплексу CalS (Hong et al., 2001, a; 2001, b).

Дослідження експресії трьох генів *GSL5*, *GSL6* та *GSL11* калозосинтетази при враженні епідермальних клітин листків *Arabidopsis thaliana* патогеном, пліснявим грибом *Blumeria graminis*, показало, що на місці вторгнення патогену утворюються калозні бар'єрні коркові структури. Молекулярними методами із застосуванням методу оцінки рівня мРНК та аналізу послідовностей *PMR4–1* встановлено, що саме ген *GSL5* кодує білки, зв'язані із синтезом калози при патогенезі (Jacobs et al., 2003).

1.7. РІСТ КЛІТИННОЇ ОБОЛОНКИ

1.7.1. Ріст оболонки

Первинна клітинна оболонка утворюється із клітинної пластинки при діленні клітини в телофазі мітозу й швидко збільшується навколо поверхні протопласту; при рості клітини розтягом, у деяких випадках її розмір збільшується більше, ніж у сто разів. Клітинний розтяг викликає інтенсивні зміни в масі та складі клітинної оболонки. Ріст клітини – це незворотне збільшення об'єму клітини шляхом розтягу (у двох чи трьох напрямках) чи подовженням (у одному напрямку). Зміна клітинної форми може бути результатом одного з двох процесів у специфічній зоні клітинної поверхні. Під час розтягу чи росту архітектура клітинної оболонки змінюється шляхом включення в неї нового матеріалу, що збільшує зону поверхні клітини для поглинання води протопластом. Осмотичний тиск, який діє в протопласті, є необхідним для проходження розтягу клітини, і цей тиск, як правило, лишається відносно постійним для підтримки сил розтягу. Регуляція розпушення оболонки розглядається як важливий первинний чинник прискорення розтягу. Архітектура оболонки повинна мати здатність до розтягу, тобто, мікрофібрили повинні розділятися й між ними повинні встроюватися нові мікрофібрили та полімери матрикса клітинної оболонки (Carpita, Gibeau, 1993; Carpita, 1996).

Розпушення полісахаридів клітинної оболонки при рості розтягом відбувається за участю наступних білків:

1) експансинів, які руйнують нековалентні зв'язки між целлюлозою та геміцелюлозами й, таким чином, допомагають ковзанню полімерів оболонки під час розтягу;

2) ксилоглюкан ендотрансглюкозилази/гідролази, яка каталізує перебудову та деградацію полімерів ксилоглюкану шляхом гідролізу чи трансглюкозилювання (Sasidharan et al., 2011); у результаті такої модифікації відбувається поперечний зв'язок ксилоглюкан-целюлози, який може потенційно полегшувати гнучкість оболонки та посилювати міцність оболонки за рахунок синтезу та включення в структуру оболонки новосинтезованих молекул ксилоглюканів;

3) енд- β -1,4-глюканази, яка каталізує гідроліз ланцюгів 1,4- β -D-глюканів, і тому цей фермент має потенційну здатність до послаблення клітинної оболонки;

4) пектинметилестерази, яка каталізує деметилетерифікацію полімерів пектину. У результаті карбоксильні групи пектинів можуть брати опосередковану участь у поперечному зв'язуванні й, тому цей фермент впливає на загустіння (желатинізацію) матрикса оболонки (Sasidharan et al., 2011)

Молекулярна структура та побудова полімерів оболонки відрізняється у різних видів, у тканин одного виду та у окремих клітин. Вважають, що ріст первинної оболонки відбувається за участю ксилоглюкан ендотрансглюкозилази (ХЕТ) та експансину, які є ріст індукуючи-

ми факторами в клітинній оболонці, що регулюють ріст. Сітка, що складається із целюлози та поперечно зв'язуючих глуканів, розміщується в пектиновому матриксі, який може контролювати доступ ферментів до їхніх субстратів (Carpita, McCann, 2000).

Для багатьох клітинних типів процес диференціації пов'язаний із формуванням спочатку первинної оболонки, а потім вторинної оболонки. Первинна оболонка завжди описується, як структура, яка бере участь у безворотному розтязі клітини. Коли ріст зупиняється, то оболонка поперечно зв'язується в кінцеву форму. Після цього починається відкладання вторинної оболонки (Cosgrove, 1997; Delmer, 1999). При диференціації у багатьох клітинах первинна оболонка перетворюється у вторинну зі зміною складу та структури відповідно до функції клітини. Вторинні оболонки часто демонструють удосконалену спеціалізацію. Наприклад, оболонки зрілих волокон бавовника містять біля 98 % целюлози. У таких клітинах, як склереїди, провідні волокна, камінні клітини груші, вторинні оболонки дуже товсті і містять велику кількість мікрофібрил целюлози, які іноді заповнюють порожнину самої клітини. Проте, вторинні оболонки можуть містити додатково і нецелюлозні полісахариди, білки, лігнін, суберин, віск та ін. речовини. У трахеїдах вторинні оболонки можуть утворювати особливі структури, такі як кільцеподібні чи спіралеподібні «обмотки». Такі оболонки крім целюлози містять глюкуронооксилани або ж 4-О-метилглюкуронооксилани. У насіння багатьох видів функціонування оболонок після їхнього формування закінчується, вони висихають. Прикладом можуть бути «крила» у плодів чорного клену та волоскові клітини перистої кульбаби та ін. Ці структури, які складаються з мертвих вторинних оболонок, виконують функцію розсіювання насіння. Крім того, вторинні оболонки можуть містити дуже багато запасних вуглеводів, які при транспортуванні перетворюються в сахарозу; ксилоглукан та галактозу знайдено у клітинних оболонках сім'ядолей ірисів та лілейних; галактоманан чи манан – в клітинних оболонках насіння та ендосперму салату (Carpita, McCann, 2000).

Відповідно до ранніх робіт, присвячених росту клітинної оболонки, дослідники запропонували кілька гіпотез: біполярного верхівкового, мозаїчного та багатосітчастого росту. На сьогодні від перших двох гіпотез відмовились. Згідно з третьою гіпотезою багатосітчастого росту (Roelofsen, Houwink, 1953), мікрофібрили синтезуються безперервно по всій поверхні протопласта і орієнтуються в поперечному напрямку до поздовжньої осі клітини, потім переорієнтовуються і просуваються до зовнішньої сторони оболонки, утворюючи структуру, що нагадує сітку. Встановлено, що мікрофібрили целюлози утворюють комплекси, що мають назву ламели, які можуть орієнтуватись по-різному: перпендикулярно, паралельно (Roland, Vian, 1979), або ж під різними кутами до осі росту. Встановлено, що відкладання ламел у різних видів рослин відбувається з певною періодичністю у часі: у водоростей від 1 до 4 год (залежно від виду) (Quader, Robinson, 1981); у деревних – відкладання окремих ламел відбувається також ритмічно (протягом доби): з 2 до 6 год після полудня відкладається целюлозна частина ламел, а з 0 до 6 год ранку – лігнін (Vian, Roland, 1987).

Одним з варіантів (підтипів) ламелярної текстури є перехресноламельярна структура, при якій ламели з подовженою орієнтацією чергуються з ламелами, що мають поперечну орієнтацію; така структура нагадує будову дикту (Roland, Vian, 1979). Поперечно-ламельярна

структура оболонки описана в клітинах епикотилу гороху і кукурудзи. Серединну пластинку розглядають як середину такої конструкції. Один з варіантів шаруватої структури є «арковидна» або гелікоїдна текстура оболонок. Розміщення мікрофібрил у таких оболонках (на зрізах) може бути у вигляді «арки», «дуги», «ялинки» (Lloyd, 1983; Emons, 1989), або ж мікрофібрили розміщуються під певним кутом по відношенню до попередньої ламели, і, таким чином, утворюється спіралеподібна структура впоперек довгої осі клітини (Roland, Vian, 1979; Takeda, Shibaoka, 1981).

Мікрофібрили целюлози «заплітаються» у слабку спіраль навколо клітини, і це запобігає клітині ставати кулястою. Мікрофібрили целюлози під час розтягу клітини можуть орієнтуватися як направо, так і вліво по відношенню до повздовжньої осі, і таким чином, зміну їхньої орієнтації можна спостерігати на кутах клітин. Товщина первинної оболонки становить від 80 до 100 нм у меристематичних клітинах, кількість шарів у оболонці теж коливається від п'яти до десяти. Проте, мікрофібрили кількох шарів можуть зливатися до заповнення пропусків, поки новий шар не відкладеться на внутрішню сторону (Carpiata, McCann, 2000).

Дж. Роланд та Б. Вієн поділяють клітинні оболонки залежно від наявності серединної пластинки на симетричні та асиметричні. Симетричні, багат шарові оболонки характерні для меристеми й молоді паренхіми, тоді як асиметрична багат шарова структура, характерна для клітин, що контактують із зовнішнім середовищем, зокрема, для клітин епідермісу, у яких внутрішня частина клітинної оболонки шарувата й/або перехресна, а на зовнішній стороні відкладається кутикула й віск. Асиметричні оболонки описані в клітинах протоплоєми й ситовидних елементів (Roland, Vian, 1979).

1.7.2. Цитокінез

Клітинна оболонка – це динамічний компартмент, який змінюється протягом життя клітини. Первинна клітинна оболонка утворюється із клітинної пластинки при діленні клітини. Початковим етапом у рості клітинної оболонки слід вважати формування клітинної пластинки під час цитокінезу. У меристемі в ході клітинного ділення клітинні оболонки дочірніх клітин складаються частково з оболонок материнських клітин та частково формуються заново. Цитокінез – це процес участі цитоплазми у формуванні нової клітинної оболонки між дочірніми клітинами. Цей процес закінчується утворенням фрагмопласта, який не тільки будує клітинну пластинку, але й орієнтує її відносно осі рослини чи осі органу. За ранніми даними фрагмопласт складається з везикулярних структур, що походять від апарату Гольджі, везикули орієнтуються в екваторіальній площині між хроматидами (Hepler, Newcomb, 1967; Cronshaw, Esau, 1968; Gunning, 1982). Пізніше ці везикули зливаються, утворюючи мембранні везикулярні агрегати (Hepler, Bonsignore, 1990). За сучасними даними, фрагмопласт складається з мікротрубочок, мікрофіламентів та мембранних елементів (Schopfer, Hepler, 1991). В останні роки дослідники почали вивчати роль елементів цитоскелету в процесі цитокінезу (Baskin, 2001; Asada, Shibaoka, 1994).

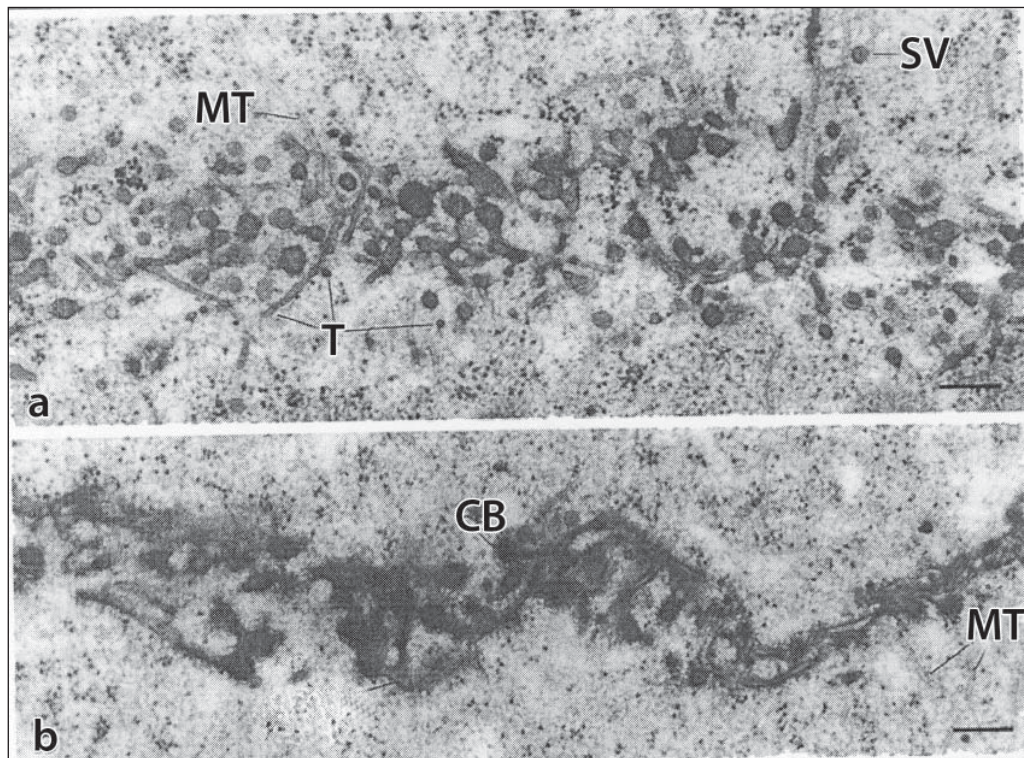
А. Самуелс зі співавторами, використовуючи метод кріофіксації та імуноцитохімії при дослідженні цитокінезу в клітинах кінчиків кореня та клітин суспензійної культури тютюну (BY-2), показали, що клітинна пластинка утворювалася, починаючи з пізньої анафази й закінчуючи в пізній телофазі (Samuels et al., 1995). Авторами показано, що елементи цитоскелета зв'язуються із фрагмопластом, розміщуючись рівномірно по колу, а ж поки вони не досягнуть «батьківської» цитоплазматичної мембрани. З'ясовано, що на ранніх стадіях формування клітинної пластинки, «хмара» везикул розміщується в екваторіальній площині, де спостерігалися лише ER та мультивезикулярні тільця. Після підходу везикул до екваторіальної зони, відбувається злиття везикул та їхнє зближення з мікротрубочками. Такі везикули вриті клатрином, що мав пір'єподібну структуру. Таким чином, утворювалася мембранна трубчасто-везикулярна сітчаста структура (рис. 1.7.2.1). Згодом така сітчаста структура стає гладкою і накоплює нові компоненти клітинної оболонки. Імуноцитохімічним методом автори показали, що такі структури містять калозу. Підходячи до материнської оболонки, трубчасто-везикулярні структури формують вирости – пальцеподібні структури, які зливаються з материнською оболонкою (Samuels et al., 1995).

Експериментально встановлено, що в процесах транспорту та злиття везикулярно-мембранних структур, а також у синтезі полісахаридів при цитокінезі задіяні білки. МакМішель та Беднарек (McMichael, Bednarec, 2013) проаналізувавши численні літературні дані стосовно проходження процесу цитокінезу, виявили, що більше сорока білків, зв'язаних із елементами цитоскелету, задіяні в процесі цитокінезу. Ними показана суттєва роль цитоскелету в цитокінезі. Зокрема, у цитоскелетному препрофазному пучку (ЦПП) кортикальні актинові філаменти беруть участь у зборці мікротрубочок і допомагають їхній конденсації у середині вузького ЦПП, який називають кортикальною зоною ділення (Liu et al., 2011). Показано, що певні білки, включаючи кінезин, мікротрубочкові організатори, форміни, субодиниці фосфатази 2A та ін., стабілізують мікротрубочки та активують цикліни B-типу (Traas et al., 1995; Malcos, Cug, 2011; Weingartner et al., 2011). Крім того, білки, зв'язані з мікротрубочками, допомагають останнім досягати дистальної зони фрагмопласта (Asada et al., 1991). Завдяки зв'язку із γ -тубуліном та білком GCP2 (Nakamura et al., 2010), відбувається нуклеація та ріст мікротрубочок під час цитокінезу.

Крім вище зазначених білків, мікротрубочки ще зв'язуються з моторними білками для АТФ-залежного руху (Hepler et al., 2002; Cai, Cresti, 2012). Кінезини функціонують не тільки для направленого транспорту, але й для регуляції організації пучків мікротрубочок при транспорті під час їхньої деполімеризації або при зв'язуванні із іншими клітинними компонентами (Zhu, Dixit, 2011).

Необхідно відмітити наявність ще шести субкласів RABA-1 білків, що беруть участь у транспортуванні та екзоцитозі везикул до плазмалеми при цитокінезі (Chow et al., 2008). Показано, що у везикулах фрагмопласта, що зливаються, накопичуються білки, які беруть участь у синтезі калози та в модифікації цукрів, необхідних для побудови клітинної оболонки (Samuels et al., 1995; Segui-Simarro et al., 2004; Baluska et al., 2005; McMichael,

Bednarek, 2013). Зокрема, у клітинній оболонці, виявлена сахарозосинтетаза (Sucrose synthase, SuSy) (Amor *et al.*, 1995), прикріплення якої до мембран регулюється фосфорилуванням, а також попереднім біосинтезом калози (Subbaiah, Sachs, 2001).



1.7.2.1. Фрагменти клітин суспензійної культури тютюну при формуванні клітинної пластинки. На рисунках *a* та *б* – видно сітку трубчато-везикулярної структури, яка щільно контактує з мікротрубочками. Позначення: Т – мембранні трубки, МТ – мікротрубочки, СВ – клатрінові бруньки, SV – секреторні везикули. Реперна мітка = 0,25 мкм (Samuels *et al.*, 1995)

Активність SuSy регулюється вмістом уридиндифосфат глюкози (UDP-glucose), яка може переносити UGT1 до активного центру калозосинтетази, утворюючи субстратний канал. Роль сахарозосинтетази у транспортуванні уридиндифосфат глюкози до калозосинтетази є дуже важливою, оскільки доставка субстрату сильно впливає на синтез калози (Amor *et al.*, 1995; Verma, 2001).

1.7.3. Роль апарату Гольджі та ендоплазматичного ретикулуму

Клітинна оболонка утворюється в телофазі мітозу у вигляді клітинної пластинки, яка виникає в результаті злиття везикул в екваторіальній площині фрагмопласта. Слід відзначити, що фрагмопласт складається з мікротрубочок, які направляють рух пухирців Гольджі до екваторіальної області клітини (Альбертс и др., 1986, а; 1986, б). Звичайно, утворення клітинної пластинки починається в центрі, росте вона від центру до периферії. Фрагмопласт відіграє роль «інструмента» у визначенні місця відкладання клітинної пластинки (Willison, 1981). При злитті пухирців мікротрубочки розпадаються, а потім знову збираються на периферії утвореної ділянки клітинної оболонки й транспортують наступну порцію везикул; і так відбувається доти, доки клітинна пластинка, яка росте відцентрово, не досягне цитоплазматичної мембрани, після чого в клітинній пластинці відбувається відкладання мікрофібрил целюлози (Willison, 1981).

Встановлено, що на перших етапах цитокінезу целюлоза відсутня у везикулах Гольджі, де виявлені арабіноза, галактоза, сліди глюкози і рамнози, а також білки з мол. масою від 120 до 250 КДа (Robinson et al., 1976).

Імунохімічним методом за допомогою колоїдного золота при вивченні цитокінезу й росту клітин *Trifolium pratense* розтягом встановлено наявність у цистернах і везикулах Гольджі рамногалактуронана 1, ксилоглюкана і речовин, які містять арабінозу. Це свідчить, що місцем синтезу нецелюлозних полісахаридів є апарат Гольджі (Gardiner, Chrispeels, 1975; Kawasaki, 1987). Відсутність мітки в ендоплазматичному ретикулумі вказує на те, що синтез цих полісахаридів на певних етапах росту клітини обмежено апаратом Гольджі. У період поділу клітини в апараті Гольджі (в клітинах кінчика кореня) знайдено ксилоглюкан, тоді як рамногалактуронан 1 в клітинних пластинках був відсутній, що, можливо, свідчить про утворення рамногалактоуронану 1 після цитокінезу.

В апараті Гольджі за допомогою біохімічного методу була виявлена глюкоуронілтрансфераза, яка бере участь у біосинтезі глюкоуроноксилана епікотилів гороху; а також виявлена глюкансинтетаза I, яка пов'язана із синтезом геміцелюлозних гетерополісахаридів, ксилоглюкана та глюкана, які складаються з (1-3)- та (1-4)- β -глюканів і глікобілків (Delmer, 1977; Waldron, 1987).

У везикулах Гольджі виявлено також кальцій, який бере участь у злитті пухирців, а точніше їх мембран (Baker, Knight, 1986). При дефіциті кальцію або порушенні його полярності в клітині інгібується злиття везикул, отже, і утворення оболонки (Reiss, Herth, 1979), що було доведено дослідниками, в яких використовували іонофор кальцію (A 23187).

Ендоплазматичний ретикулум, як і апарат Гольджі, може брати участь у біогенезі клітинної оболонки. Методом електронної мікроскопії встановлено, що в процесі цитокінезу профілі його каналів виявляються біля везикул Гольджі (Jones, Payne, 1978). При вивченні регенерації клітинної оболонки протопластами вищих рослин дослідники спостерігали активацію ендоплазматичного ретикулуму (Mori et al., 1983). Ці автори відзначали активацію ретикулуму через 90 хв. після виділення протопластів.

Деякі автори виявили в клітинах поряд з цитоплазматичною мембраною густу сітку ретикулуму, що спостерігається під час секреції білково-вуглеводного слизу в пилку *Lillium longiflorum* (Van der Woude et al., 1971) або галактоманана у клітинах *Trigonella boenum-graecum* (Meier, Reid, 1977), що дозволило зробити припущення про можливість участі ендоплазматичного ретикулуму у процесах синтезу і транспортуванні полісахаридів матрикса.

Цікавий факт виявлено у фракції ендомембран щодо активності ряду ферментів, які беруть участь в утворенні пулу нуклеотидцукрів: УДФ-галакто-4-полімерази в клітинах бобів (Panayotatos, Villemez, 1973), фосфоглюкомутази й УДФ-глюко-пірофосфатази, синтетази і трансферази полісахаридів у клітинах стебла цибулі (Fincher, Stone, 1981).

За допомогою цитохімічних та авторідіографічних методів встановлено, що ендоплазматичний ретикулум є місцем синтезу гліколіпідів і екстенсину клітинних оболонок (Willison, 1981). Використання міченої ізотопом ^{14}C -арабінози на суспензійних клітинах тютюну дозволило встановити включення мітки в мембранну фракцію з апарату Гольджі і ендоплазматичного ретикулуму. Мембранна фракція містила типові арабіногалактанові білки з молекулярною масою 10000, які були зв'язані із залишками гідроксипроліну (Kawasaki, 1987; Kawasaki, Sato, 1979). За допомогою радіоактивної глюкози мітка виявлена як у оболонці, так і в ендоплазматичному ретикулумі (Robinson et al., 1976).

Припускають, що ендоплазматичний ретикулум також бере участь у синтезі і транспортуванні попередників калози (Roland, 1973), а також у синтезі гідроксипроліну (Sadava, Chrispeels, 1978). Ендоплазматичний ретикулум, як і апарат Гольджі, бере участь у транспортуванні ферментів, необхідних для функціонування оболонки.

За допомогою імунохімічного методу встановлена наявність трьох молекулярних форм целюлози, дві з яких зв'язані з ендоплазматичним ретикулумом і інтерпретуються, як гліколізовані форми; третя («дозріла») форма – з апаратом Гольджі й цитоплазматичною мембраною (Dallman et al., 1989). Постачання целюлаз, ймовірно, пов'язано з ретикулумом, але остаточний механізм цього процесу не з'ясовано.

Відомо, що виділення білків з ендоплазматичного ретикулуму в апопласт відбувається шляхом екзоцитозу: через їхні включення в диктіосоми або везикули Гольджі, які експортують вміст на зовнішню сторону протопласта, чи через прямий контакт ендоплазматичного ретикулуму і плазмалемі, або ж шляхом утворення розширень на кінцях ретикулуму і їх відокремлення з наступним екзоцитозом везикул у периплазматичний простір (Kristen, 1980; 1982).

1.7.4. Участь цитоплазматичної мембрани

Головну роль під час синтезу целюлози відіграє цитоплазматична мембрана клітини (Тарчевский, Марченко, 1985). Необхідною умовою синтезу мікрофібрил целюлози на плазмалемі є наявність на мембрані певного трансмембранного електричного потенцілу, целюлозосинтетази, білка активатора й попередників синтезу глюканів. Припускають, що целюло-

зосинтетаза активна лише при цілісності її комплексу зі специфічним активованим білком (Aloni et al., 1982).

За допомогою методу авторадіографії з використанням мічених попередників глюканів (^3H -глюкози й ^{14}C -глюкози) встановлено, що мітка зв'язується як з ендомембранами, так і з глюканами оболонки (Bowles, Northcote, 1974). Вивчення кінетики включення пульсуючої мітки у УДФ-глюкозу в β -глюкани показало, що саме плазмалема є місцем включення ізотопу (Raymond et al., 1978).

На основі біофізичних досліджень ще в середині минулого століття було висунуто припущення про те, що синтез глюканових ланцюгів і їх збирання в мікрофібрили повинні проходити під дією комплексу ферментів на кінцях мікрофібрил (Roelofsen, 1958). Р. Престон (Preston, 1964), який вивчав розміщення мікрофібрил і глобулярні утворення на зовнішній поверхні плазмалеми водорості *Valonia*, запропонував одну з перших моделей синтезу мікрофібрил. Пізніше у зеленої хлорококової водорості *Oocystis apiculata* також були знайдені асоціації мікрофібрил з гранулами, які назвали термінальним комплексом (Montezinos, Brown, 1978).

Ретельний опис структури термінального комплексу та його роль у синтезі целюлози проаналізовано в підрозділі 1.1. *Целюлоза. Синтез целюлози*. У цьому ж підрозділі ми лише коротко зупинимося на загальній характеристиці термінального комплексу. Гранули термінального діаметром 8,5 нм розміщуються на зовнішній поверхні плазмалеми в три ряди. Дослідники припускають, що загальне число гранул у термінальному комплексі відповідає числу ланцюгів целюлози в мікрофібрилі, і що термінальні комплекси є місцем синтезу ланцюгів целюлози, збирання їх у мікрофібрили та орієнтації. Очевидно, термінальний комплекс протягом росту мікрофібрили рухається в рідкому зовнішньому ліпідному шарі, а гранули на внутрішній стороні плазмалеми беруть участь у транспортуванні попередників целюлози з гіалоплазми до термінальних комплексів. Процес кристалізації мікрофібрил створює рухому силу, яка й штовхає термінальні комплекси вздовж плазмалеми (Robinson, Quader, 1981).

Запропоновано кілька моделей синтезу мікрофібрил для первинної і вторинної оболонок, згідно з якими у первинній оболонці термінальний комплекс складається з однієї розетки, яка синтезує мікрофібрилу діаметром 5 нм, а у вторинній оболонці число термінальних комплексів досягає 10-ти, і, відповідно, збільшується діаметр мікрофібрили целюлози (Emons, 1985; Mueller, Brown, 1980).

Б. Шнайдер та В. Херз за допомогою інтерференційної та електронної мікроскопії клітин ксилеми коренів кукурудзи, крес-салату й бобів виявили нагромадження на внутрішній поверхні плазмалеми розеток, а на зовнішній – термінальних глобул. Обидва типи частинок віднесені до одного комплексу. Порівняння вмісту й розподілу розеток з розміщенням мікротрубочок, які прилягають до потовщень клітинних оболонок ксилеми, свідчать про відсутність прямого зв'язку між цими структурами. Припускають, що мікротрубочки беруть участь у групуванні розеток термінального комплексу й тим самим беруть опосередковану участь в орієнтації мікрофібрил (Schneider, Herth, 1986).

Підрахунки вмісту термінальних комплексів і паралельне вивчення ультраструктури клітин дозволили зробити припущення, що число розеток корелює з ростом оболонки, тобто із синтезом целюлози. Підрховано, що в клітинах, для яких характерний апікальний ріст, максимальна кількість розеток припадає на плазмалемі біля апексу клітини (42 розетки на 1 мкм^2), тоді як біля основи клітини воно значно зменшується (до 3-4 на 1 мкм^2). Показано, що одна елементарна мікрофібрила целюлози утворюється із 13200 розеток протягом 1 хв (Reiss et al., 1984), швидкість продукції становить 900 нм довжини мікрофібрили на одну розетку за хвилину.

Для кожного виду швидкість утворення целюлозних мікрофібрил різна. Встановлено, що у клітинах *Acanthosphaera* подовження целюлозної фібрили відбувається зі швидкістю 500 нм хв^{-1} ; у клітинах діатомових – $1\text{-}20 \text{ нм хв}^{-1}$; у клітинах тютюну – 300 нм хв^{-1} . Активна фаза розетки в клітинах, що ростуть триває 10 хв; у клітин моху фунарія вологомірна – теж 10 хв, тоді як у *Oocystis* – кілька годин (Herth, Seagull, 1982; Reiss et al., 1984; Schneider et al., 1982; Schneider, Herth, 1986).

Структури, схожі на гранули термінальних комплексів, були виявлені в мембранах цитоплазматичних везикул у *Micrasterias* і на мембранах диктіосом мохів. Це дало можливість припустити, що гранулярні частинки транспортуються до плазмалеми з участю ендомембранної системи клітин (Giddings et al., 1980), яка, як відомо, бере участь у транспорті попередників полісахаридів. До того ж, β -1,4-глюкансинтетаза, яка виявлена в апараті Гольджі, очевидно, неактивна, що дозволяє зробити припущення, що цей фермент транспортується до цитоплазматичної мембрани, де він активується й бере участь у синтезі попередників целюлози (Helsper et al., 1977; Northcote, 1977).

Проте, на думку інших авторів, мікрофібрили целюлози можуть синтезуватися в секреторних везикулах (Willison, 1981). Роль компонентів целюлозосинтетичного комплексу до кінця ще не з'ясована. Якщо частки цього комплексу відповідають за синтез мікрофібрил, то можливо, що кожна частка комплексу бере участь у синтезі нуклеозиддифосфат цукрів, або ж ці частинки мають кілька функцій, які виконуються різними його частинами, включаючи прикріплення целюлозо-синтезуючого комплексу до мікротрубочки, що знаходяться нижче, і транспортування глюканових ланцюгів (Willison, 1981). Можливо, що целюлозосинтетаза активується в апараті Гольджі під час транспортування до плазмалеми.

Виходячи з того, що при утворенні вторинних оболонок ступінь полімеризації целюлози для даного виду постійний, дослідники припустили, що синтез глюканових ланцюгів і кристалізація мікрофібрил розділені, і запропонували модель збирання мікрофібрил, за якою окремі глюкановий ланцюг довжиною від 7 до 22 нм (залежно від виду) синтезується перед кристалізацією целюлози на клітинній поверхні (Palme et al., 1976; Willison, 1981).

Інші дослідники показали, що розмір кристалічної серцевини невеликий (Marchessault, Sundrарagen, 1977; Chanzy et al., 1979). Необхідно зазначити, що термінальний комплекс не завжди виявляли в клітинах, що ростуть. Так, у протопластів мезофілу тютюну при регенерації клітинної оболонки термінальний комплекс не виявлявся (Willison, 1981), і це дозволяє припустити, що механізм збирання первинної оболонки відрізняється від такого у вторинній оболонці.

Використання інгібіторів росту клітин розтягом монензину (10^{-6} М) і цитохалазину (2×10^{-5} М) показало, що монензин зупиняє ріст і веде до інгібування секреторної активності апарату Гольджі вже через 15 хв, тоді як цитохалазин не діє на розтяг і на структуру клітин, але знижує кількість розеток, що також приводить до інгібування синтезу целюлози (Rudolph, Schnepf, 1988).

1.7.5. Субстрати синтезу полісахаридів

Збирання глюканових ланцюгів целюлози проходить за участю комплексу ферментів, зв'язаних з мікрофібрилами (Preston, 1974; 1979). Одержані дані показали, що процес біосинтезу целюлози не є прямою ферментативною полімеризацією моноцукрів. Молекула моноцукру повинна бути активованою й мати великий надлишок енергії для того, щоб фермент був здатний здійснювати її перенос до акцептора, у результаті чого проходив би синтез і ріст ланцюга полімера (Хассид, 1974). Донорами під час біосинтезу складних цукрів є нуклеозиддифосфатцукри (ГДФГ, УДФГ та/або ГДФ-маноза).

Деякі автори вважають, що для синтезу целюлози необхідна також наявність ферменту Mg^{2+} -залежної-(1-4)-глюкансинтетази (КФ 2.4.1.12), яку ще називають глюкансинтетазою 1 (Delmer et al., 1985). Цей фермент виявлено у фракції везикул з протопластів сої (Griffing et al., 1986). Методом авторадіографії із застосуванням 1,4-D- (^{14}C) -глюкана також була встановлена наявність активності целюлозосинтетази 1 в плазмалемі *Acetobacter xylinum* (Bureau, Brown, 1987).

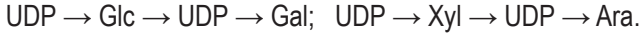
Ферментами синтезу полісахаридів оболонки є глюкансинтетаза 1 (КФ 2.4.1.12), та глюкансинтетаза 2 (КФ 2.4.1.34), перший фермент виявлено лише в структурах апарату Гольджі, тоді як в плазмалемі – перший і другий ферменти. Припускають, що мембранні пухирці відділяються від цистерн Гольджі і, захоплюючи фермент, доставляють його до клітинної оболонки, де він і бере участь у синтезі β -1,4-зв'язаного глюкана (Griffing et al., 1986). У плазмалемі також виявляється і β -1,3-глюкансинтетаза, яка відповідає за синтез калози й гетерополісахаридів матрикса.

Заслужують на особливу увагу експериментальні дані про збільшення транспортної РНК під час синтезу целюлози у вторинних оболонках волокон бавовнику при використанні міченого метіоніну, на основі чого зроблено висновок про включення експресії гену в синтез целюлози (Delmer et al., 1985).

Збирання рослинної оболонки зовні протопласта є комплексним секреторним процесом. Він контролюється на рівні синтезу речовин, транспортними механізмами ендомембранної системи й регуляцією екзоцитозу. Контроль за збиранням відбувається двома шляхами: контролем за синтезом метаболітів і за регуляцією ферментативної активності на певних стадіях диференціювання клітин (Northcote, 1982; 1984).

Під час вторинного потовщення оболонки відбувається зупинка синтезу пектинів, збільшення синтезу геміцелюлоз та синтезу целюлози, початок синтезу лігніну, а в ситовидних трубках – посилений синтез калози.

Виявлено, що на різних стадіях росту оболонки під час диференціювання клітин ксилеми проростків дводольних, синтез полісахаридів регулюється доступними попередниками нуклеозиддифосфатцукрів, і доведено, що перетворення попередників геміцелюлоз у попередники пектинів не відбувається (Northcote, 1984), при цьому встановлено ступінь активності епімерази стосовно попередників:



Відомо, що реакції синтезу геміцелюлоз і пектинів проходять в основному в апараті Гольджі, проте, можливо, що початкове глікозування відбувається й у ендоплазматичному ретикулумі, особливо, якщо в цей процес залучені відповідні білки (Northcote, 1984). Проте яким чином відбувається транспортування нуклеозиддифосфатцукрів через мембрани, невідомо. Можливо, що існує дві системи: одна в ендоплазматичному ретикулумі, друга – у апараті Гольджі, або ж існують переносники нуклеозиддифосфатцукрів (Eggens, Dallner, 1982). Очевидно, на мембранах ретикулуму і апарата Гольджі відбувається відбір УДФ-глюкози, тому що там виявлена активність β -1,4-глюкансинтетази (Bowles, Northcote, 1972).

Активність синтезу полісахаридів матрикса оболонки зв'язана з диференціацією клітин. Під час утворення вторинних оболонок у клітин, які культивуються *in vitro*, синтез пектинів зупиняється, у той самий час активність ксилансинтетази, яка бере участь у синтезі геміцелюлоз, збільшується (Northcote, 1984), її активність регулюється рівнем нуклеозид моно- і дифосфатів (Dalessandro, Northcote, 1981 a; 1981, b).

Вивчення швидкості поглинання екзогенної ^{14}C -глюкози, ^{14}C -глюкозо-6-фосфату, ^{14}C -сахарози та інтенсивності їх використання у синтезі полісахаридів регенеруючої клітинної оболонки у протопластів бобів дозволило встановити, що швидкість транспорту екзогенних субстратів при низьких концентраціях цукрів і додаванні екзогенного АТФ збільшується (Племенкова, 1985). Припускають, що активація синтезу структурних полісахаридів визначається інтенсивністю фосфорилування їх попередників.

Встановлено, що активний синтез полісахаридів оболонки відбувається в G1-фазі клітинного циклу, що було чітко показано при використанні мічених попередників полісахаридів на клітинах, які культивуються *in vitro*; у S-фазі збільшення радіоактивності не виявлено (Amino, Kokomine, 1985).

1.7.6. Роль іонів кальцію

Кальцій вважають ключовим посередником у регуляції різних клітинних процесів тваринної й рослинної клітин (Альбертс, 1986, а). У зв'язку з цим, вивченню ролі іонів кальцію в метаболізмі рослинної клітини почали приділяти особливу увагу. Рослини містять багато кальцію, у середньому 1-3 % від сухої маси (Demarty et al., 1984); у листках і стеблах його більше, ніж у запасних органах. У клітині основна частина кальцію міститься в оболонках, де його вміст становить 10^{-4} – 10^{-3} М, тоді як у цитоплазмі – 10^{-8} - 10^{-7} М, що було підтверджено різноманітними методами дослідження.

М. Розігнол зі співатоорами, які вивчали розподіл кальцію методом фракційного аналізу, встановили, що для кінського боба і жовтого люпину 60 % загального кальцію зв'язано з клітинною оболонкою, 7 % – з мембранами, 33 % – з розчинною фракцією клітини (Rossingnol et al., 1977). Методом іонної проби при дослідженні розподілу Ca^{2+} в основних рухомих органах *Mimosa pedicula* він виявлявся не тільки в оболонках, але й у хлоропластах і танінових тільцях (Campbell et al., 1979). Відомо, що кальцій разом з іншими іонами може пасивно транспортуватись через оболонку. У рослину кальцій надходить через корені, де він транспортується латерально по апопласту кори, що було показано за допомогою різних методів, включаючи авторадіографію й рентгенструктурний аналіз, при цьому виявлена лінійна залежність включення міченого кальцію спочатку в оболонку й у периплазматичний простір, а потім через певний проміжок часу – у цитоплазму (Van de Geijn, Petit, 1979).

Прийнято вважати, що іони кальцію збільшують сили зчеплення в клітинній оболонці. Серединна пластинка має структуру геля й складається з β -1,4-полігалактуронанів. В утворенні гелю серединної пластинки беруть участь іони кальцію, індуючи гелізацію вільних розчинів пектину, що було показано біофізичними методами (Thom et al., 1982). Як у серединній пластинці, так і в оболонці, кальцій утворює поперечні зв'язки, при цьому іони кальцію з'єднуються з атомами кисню карбоксильних груп чотирьох залишків галактуронових кислот і розподіляються між двома галактуроновими ланцюгами, у результаті чого упаковка кальцію нагадує упаковку яєць у коробці («egg box»). Міцність зв'язків кальцію залежить від ступеню метилетерифікації галактуронів та/або рамногалактуронів (Hepler, Wayne, 1985).

Згідно з даними Р. Престона (Preston, 1979), пектинові речовини зв'язуються з іншими кислими полісахаридами тільки за допомогою іонів кальцію. Вважають, що в пектиновому гелі крім електростатичних зв'язків Ca^{2+} з карбоксильними групами можливий і другий тип зв'язку кальцію, а саме іонний координований зв'язок з гідроксильними групами полісахаридів, та, очевидно, і білків (Gidley et al., 1980). Встановлена адсорбція ^{45}Ca з константою зв'язування 4×10^{-4} М із максимальною ємністю $1,5 \times 10^{-8}$ іонів Ca^{2+} гр сирої маси клітинних оболонок епикотилія гороху. Адсорбційна ємність зменшується при зсуванні рН нижче 6,0, що свідчить про зв'язування Ca^{2+} аніонними групами із заданою константою асоціації (рН 4.7). Обробка оболонок полігалактуроназою знижує кальцій-адсорбційну ємність оболонок на 60 %, що свідчить про іонний зв'язок кальцію з полігалактуроновією кислотою, при підвищенні концентрації протонів іони кальцію виводяться з її негативних зарядів унаслідок їхньої конкуренції за центри адсорбції (Virk, Cleland, 1988).

Клітинна оболонка має систему обміну катіонів, у тому числі і кальцію. Ця катіонна обмінна здатність оболонки у кальцієфобних рослин характеризується низьким об'ємом, у кальцієфілів – середнім і високим, що, очевидно, залежить від щільності іонізованих груп в оболонці, іонної сили й іонного складу середовища, а також від іонних змін в оболонці (Demarty et al., 1984).

Присутність Ca^{2+} в оболонці діє на її механічні властивості. Встановлено, що пластичний розтяг збільшується вдвічі при вилученні з оболонки до 60 % кальцію (з допомогою хелаторів ЕГТА та ЕДТА або зниження рН від 6 до 3) (Virk, Cleland, 1988); додавання Ca^{2+} знижує пластичний розтяг. При втраті оболонками магнію й натрію також може збільшу-

ватись розтяг оболонки у епідермісі гороху, але калій не діє на цей процес (Terfer, Taylor, 1981). Зниження пластичності оболонки при додаванні кальцію, можливо, пов'язано з його адсорбцією й утворенням допоміжних поперечних зв'язків Ca^{2+} з уроновими кислотами. При зниженні рН апопласта під дією ІОК можуть утворюватися поперечні зв'язки, завдяки чому кальцій може витиснятися протонами й розтяг оболонки збільшується; при цьому, кальцій може переміщуватися й на зовнішню частину оболонки та виходити з неї (Virk, Cleland, 1988).

Механічні властивості оболонки залежать від вмісту іонів у середовищі. Проте Р. Кленд та Д. Рейл, вивчаючи механічні властивості оболонки колеоптилів вівса, встановили, що коефіцієнт пластичного й еластичного розтягу сегментів колеоптилів, оброблених гарячим метанолом, не залежить від наявності в середовищі $0,012 \text{ M Ca}^{2+}$ (Cleland, Rayle, 1977). Присутність кальцію в зовнішньому середовищі не діє на швидкість видалення протонів з непошкоджених сегментів у розчин (при стимуляції ауксином). При переміщенні препаратів у кисле середовище (рН 5.0) помітно збільшувався розтяг сегментів, який різко гальмувався при наступному додаванні в середовище кальцію, тобто інгібуюча дія іонів кальцію на механічні властивості оболонки залежить, в першу чергу від концентрації H^+ в клітинній оболонці, при цьому кальцій може бути конкурентом H^+ за місця зв'язку в оболонці.

Встановлено, що не тільки іони кальцію інгібують ріст оболонки, на цей процес діють і інші іони. Відзначена здатність деяких іонів до утворення гелів з очищеним деетерифікованим пектином, Mn^{2+} не приводить до утворення гелю, але викликає інгібування росту. Автори довели, що двовалентні катіони: Mg^{++} , Mn^{++} , Ca^{++} , Co^{+++} та Zn^{++} інгібують ріст клітинних оболонки (Terfer, Taylor, 1981).

Прямим доказом ролі кальцію в зниженні еластичності оболонки є роботи М. Ярвіса зі співавторами (Jarvis et al., 1984). У цих працях заміною кальцію на натрій були збільшені пластичність і в'язкість оболонки колєніми стебел селери при навантаженні. Набухання оболонки при заміщенні іонів кальцію на натрій указує на те, що розчинення пектинового гелю проходить поволі, поступово й незворотно, проте деталі цього процесу поки що невідомі.

Дослідники припускають, що кальцій-зв'язуючі зони оболонки були виключно пектиновими, хоча, можливо, і мало місце зв'язування Ca^{2+} з H^+ -групами білків (Terfer, Taylor, 1981; Wuytack, Gillet, 1978). Можливість зв'язку Ca^{2+} в оболонці з кислими амінокислотами не виключають й інші дослідники (Cleland, Rayle, 1977). Припускають, що інгібуючі катіони, у тому числі й кальцій, можуть прямо діяти на ферменти оболонки, індукуючи в них конформаційні зміни. Якщо ж розтяг оболонки є неферментативним, то катіони-інгібітори, можливо, взаємодіють з компонентами матрикса оболонки, утворюючи зворотні конформаційні зміни за допомогою механізму, який не веде до утворення пектинових гелів (Terfer, Taylor, 1981).

При заміщенні протонів в оболонці кальцій виступає в ролі буфера й відіграє певну роль у функціонуванні рН-залежних ферментів (фосфатаз і β -1,3-глюкансинтетаз). При цьому кальцій діє не прямо на фермент, а шляхом модифікації локального значення рН (у конкуренції з H^+) та/або шляхом збільшення іонної сили оболонки (Sugawa et al., 1981; Demarty et al., 1984). На фракції оболонки з проростків огірків показано, що при відсутності

Ca^{2+} в середовищі (кальцієвий голод) активність лужної фосфатази в оболонці збільшувалася в 6,6 раза порівнянно з контрольними зразками, а в цитоплазмі активність цього ферменту не змінювалася (Yamaa et al., 1982).

Ca^{2+} , виступаючи антагоністом ростового гормону ІОК, інгібує клітинний розтяг (Buckhout et al., 1980; Cleland, 1986). Проте такий механізм відсутній у колеоптилів вівса – при виході кальцію з оболонок механічні властивості клітинних оболонок не змінювалися (Cleland, Rayle, 1977). У дводольних становить інше: при використанні інгібіторів кальцію (для запобігання гіберелін-індукованого розтягу гіпокотилля) і хелаторів кальцію (ЕГТА) встановлено чітке розпушення оболонок досліджуваних тканин (Mole, Jones, 1981; Soil, Bottger, 1982). Припускають наявність чотирьох взаємно виключаючих механізмів інгібування кальцієм подовження клітини: 1) зниження тургору; 2) зменшення ауксин-індукованого виділення протонів; 3) зниження здатності оболонки до окислено-індукованого росту розтягом; 4) пряма дія кальцію на біохімічні процеси розпушення оболонок (Cleland, Rayle, 1977; Tagawa, Bonner, 1957).

П. Хеплер і Р. Вейн (Hepler, Wayne, 1985) вважають, що відносно висока концентрація кальцію, очевидно, не змінює тургору. Найімовірніше, що навіть незначні коливання вмісту кальцію в оболонці ведуть до відповідних змін у вмісті іонів калію та осмотичних речовин у клітині.

Багатогранність дії ауксину і явного залучення кальцію до багатьох процесів поки що не зовсім зрозумілі. Припускають, що ауксин і Ca^{2+} є антагоністами: ауксин збільшує розтяг клітини, а Ca^{2+} (1-10 мМ) – інгібує ріст (Hepler, Wayne, 1985; Tagawa, Bonner, 1957). Це можна прослідкувати при вивченні гравітропізму. Той факт, що ауксин діє як стимулятор виходу протонів при розпушенні й розтягу оболонки, доводить вплив ІОК на вихід іонів кальцію (Cleland, Rayle, 1977) з оболонки. Цей процес, зв'язаний з метаболізмом клітини, залежить від мінерального живлення, дії гормонів і зовнішніх впливів (Hepler, Wayne, 1985).

Існує певний зв'язок ауксину й кальцію. Припускають, що транспортування Ca^{2+} у клітини регулює потік ауксину шляхом їхньої взаємодії. Початковий рух кальцію може збільшувати цитоплазматичну концентрацію ІОК, що викликає деполяризацію мембрани. Ca^{2+} також може активувати й мембранні переносники ІОК (Cohen, Lilly, 1984; Hepler, Wayne, 1985).

Кальцій клітинних оболонок відіграє роль не тільки в процесі росту клітин, а й у старінні, про що свідчать дані, одержані при дослідженні плодів у фазі дозрівання. Встановлено, що при дозріванні плодів відбувається збільшення розчинних пектинів у клітинних оболонках (Sawamura et al., 1978), а також втрата галактози, арабінози і уронових кислот (Ferguson, 1984). Ці зміни корелюють з швидким розчиненням серединної пластинки (Platt-Aloia et al., 1980), зниженням в'язкості пектину, а також активуванням екзо- і ендополігалактоуранази, а також і пектинестерази (Bartley et al., 1982), які діють на пектинові молекули. Збільшення активності полігалактуранази, як відомо, пов'язано з підвищенням вмісту вільних карбоксильних груп. Цей фермент неактивний до метильованих поліуронідів, можливо, внаслідок виходу кальцію, який може вивільнюватись під дією полігалактуранази, яка викликає послаблення Ca^{2+} -зв'язків у довгих ланцюгах полігалактуранів (Ferguson, 1984).

Кальцій оболонки відіграє певну роль у підтримці форми клітин рослин. Встановлено, що зниження вмісту кальцію в середовищі викликало заокруглення клітин *Euglena gracilis* і зменшення їх розміру (Lonegan, 1984). Припускають, що це пов'язано з впливом кальцію на полімеризацію й орієнтацію елементів цитоскелету. Вилучення із середовища іонів магнію не викликало округлення досліджуваних клітин.

Кальцій клітинних оболонки відіграє важливу роль у кальцифікації таких водоростей, як *Acetabularia* і червоні коралові водорості, в яких вуглекислий кальцій відкладається в оболонках (Bohl, Goreau, 1973; Borowitzka, 1984).

1.7.7. Роль мікротрубочок

Невід'ємна роль елементів цитоскелета, у тому числі й мікротрубочок, у процесі цитокінезу ретельно описано в підрозділі 1.7.2. Мікротрубочки, які утворені молекулами тубуліну й містять дві субодиночі, мають вигляд білкових «ниток» із зовнішнім діаметром 24 нм, електроннопрозорою серцевиною близько 10 нм і електроннощільною оболонкою близько 7 нм, їхня довжина її в рослинних клітинах досягає кількох мікрометрів; вони виконують функцію підтримуючої структури (Либберт, 1982) і беруть активну участь у рості клітин розтягом. Встановлено, що орієнтація мікрофібрил целюлози клітинної оболонки рослин відіграє головну роль у визначенні форми клітини (Hogetsu, 1986; Quader et al., 1987).

У молодих клітин, які ростуть, (наприклад, волокна бавовнику) мікрофібрили целюлози й мікротрубочки розміщуються паралельно одна до одної, але перпендикулярно до довгої осі клітини. При диференціюванні клітин мікрофібрили змінюють свою орієнтацію, утворюючи спіраль уздовж клітини, паралельно змінюється й розміщення мікротрубочок (Robinson, Quader, 1982). У клітин кінчика кореня протягом їхнього росту орієнтація мікрофібрил і мікротрубочок змінюється з поперечної на косу, що вказує на кореляцію в їхній орієнтації (Hogetsu, 1986). Розміщення мікротрубочок випереджає побудову архітектури мікрофібрил целюлози оболонки, що чітко показано на клітинах кореневих волосків проростків цибулі при використанні імунофлуоресценції й моноклональних антитіл до тубуліну (Lloyd, 1983). Таке «узгодження» орієнтації кортикальних мікротрубочок і целюлозних мікрофібрил оболонки рослинних клітин характерне як для первинних, так і вторинних оболонки. Відзначена вище кореляція дала можливість припустити, що мікротрубочки безпосередньо направляють орієнтацію мікрофібрил (Robinson, Quader, 1981). При старінні в багатьох клітинах відбувається переорієнтація (відносно повздовжньої осі клітини) мікротрубочок від перпендикулярного до хаотичного розподілу. Роль мікротрубочок, очевидно, зводиться до утворення «колії» транспортування, вздовж якої ще й рухається термінальний комплекс (Robards, 1980).

Оскільки мікротрубочки залучені до орієнтації новосинтезованих мікрофібрил целюлози в оболонці (Quader et al., 1987), а орієнтація мікрофібрил визначає форму клітини й напрямок клітинного росту, то, очевидно, мікротрубочки діють і на морфогенез рослин (Galway, Hardham, 1986). Методом імунофлуоресценції на витягнутих клітинах суспензійної

культури *Zinnia* sp. встановлено, що мікротрубочки орієнтувались під кутом до осі клітини, у кулеподібних та ізодіаметричних клітин цього ж виду мікротрубочки розміщувались хаотично, у яйцевидних клітин – під кутом до осі клітини і хаотично (Falconer, Seagel, 1986). Проте для клітин, які характеризуються апікальним ростом (пилкових трубок, протонеми й кореневих волосків), орієнтація мікрофібрил не корелювала з розміщенням мікрофібрил целюлози (Emons, 1986; 1989), тобто, для таких клітин характерна гетерогенність розміщення мікротрубочок по відношенню до орієнтації мікрофібрил. Очевидно, що в цих клітинах мікротрубочки залучені до морфогенезу клітини певної форми й не є необхідними для орієнтації целюлозних мікрофібрил.

Деполімеризація кортикальних мікротрубочок рослинних клітин колхіцином, онкодазолем, колцемідом або гексанітродифенілаланіном, при якій інгібітор зв'язується із субдиницями тубуліну, не діяла на синтез і орієнтацію мікрофібрил (Хоркавцев та ін., 1984; Robinson, Quader, 1982), однак будь-які зміни в розміщенні мікрофібрил, які пов'язані з диференціюванням клітини, повністю блокуються. Використання інгібіторного аналізу (із застосуванням кумарину) при вивченні регенерації оболонки в протопластів *Mougeotia* sp. показало відсутність впливу на утворення й орієнтацію мікротрубочок, а також на форму клітин. Застосування колхіцину (5×10^{-4} – 5×10^{-5} М) змінювало форму клітин, яка протягом чотирьох діб залишалася кулястою, тоді як у контролі вже через одну добу форма клітин з кулястої змінилась на видовжену, через 36 год – на циліндричну. У дослідному варіанті мікротрубочки не зв'язувались з плазмалемою, що свідчить про важливу роль мікротрубочок під час орієнтації відкладення мікрофібрил целюлози і підтримці форми клітин (Marchan, Hines, 1979).

Відзначена здатність кортикальних мікротрубочок діяти на орієнтацію новосинтезованих мікрофібрил оболонки вказує на наявність такого зв'язку. Проте питання про механізм і молекулярну основу зв'язку мікротрубочок і мікрофібрил целюлози клітинної оболонки лишається відкритим.

1.7.8. Функції фітогормонів

Відомо, що ріст клітин рослин розтягом залежить від виду й механічних властивостей оболонок, включаючи пластичний розтяг (незворотний) і еластичний (зворотний розтяг). Такий ріст зв'язаний з дією фітогормонів, синтезом РНК і білків, участю дихання і зміною тургору (Полевой, 1986). Головна роль у розтязі оболонок належить ауксином, що було доведено різними методами дослідження на клітинних оболонках одно- і дводольних рослин (Coartney, Morre, 1980; Osborne, 1977). ГК і цитокінін, на відміну від ІОК, не виявляють чітких стимулюючих ефектів на клітинне розтягування, АБК гальмує цей процес, а етилен як стимулює, так і інгібує (Kappler, Kisten, 1986; Полевой, 1986). Так, цитокініни викликали розтягування оболонок у сім'ядолей редьки та огірків, листків квасолі (Thomas et al., 1981; Cleland et al., 1987), гібереліни – у гіпокотилів салату, етилен – у колеоптилів рису (Ishizawa, Esachi, 1984). Така гетерогенність реакції до певного фітогормону, очевидно, характеризує чутливість виду до його дії і, можливо, пов'язана з наявністю специфічних рецепторів (Cleland et al., 1987).

Механізм дії фітогормону ІОК на генетичний апарат ауксин-чутливих тканин полягає в активуванні транскрипції й трансляції, що доведено прискоренням включення мічених попередників у РНК і білки при дії ауксину (Полевой, 1986; Полевой, Саламатова, 1975).

Р. Кліленд вважає, що між протопластом, де функціонує гормон, плазматичною мембраною й клітинною оболонкою завжди існує зв'язок у вигляді реакції сигнал – відповідь; реакція-відповідь на сигнал фітогормону виявляється в розтягуванні оболонки. Тому протопласт повинен виділяти в оболонку або ж поглинати з оболонки універсальний фактор розпушення оболонки («wall loosening factor») (Cleland, 1986). Під дією гормону цей фактор розтягу протягом усього життя клітини регулює швидкість її росту. Виявлено два таких фактори: протони й іони кальцію. Вірогідність протонів, як фактора розпушення показана деякими авторами (Brummell et al., 1984), але існує виняток, коли під час ауксин-індукованого розтягу оболонки протони не виділяються (Полевой, 1986; Ross, Rayle, 1982).

Другий фактор розпушення оболонки — це іони кальцію; у цьому випадку розпушення відбувається при виході Ca^{++} з апопласта в обмін на H^+ . Ca^{++} в оболонках утворює поперечні зв'язки, посилює цупкість оболонки й інгібує активність літичних ферментів. Проте такий механізм відсутній у колеоптилей вівса, де вихід кальцію з оболонки не змінює їх механічних властивостей (Cleland, Rayle, 1977). Встановлено, що модифікатори іонів кальцію інгібували гіберелін-індуковане розтягування гіпокотилів салату. Подібні результати одержані й при використанні хелаторів кальцію на епідермісі стебла соняшника (Soll, Bottger, 1982).

Активуючу дію ^{45}Ca на клітини колеоптилів кукурудзи можна зареєструвати лише через певний час, тоді як вхід невеликої кількості кальцію в цитоплазму маскується його виходом з оболонки у навколишнє середовище (Полевой и др., 1974). Таким чином, розтягнення клітинних оболонок регулюється експортом або імпортом іонів: у однодольних – H^+ , у дводольних – Ca^{++} (Cleland, 1981; 1986; Cleland et al., 1987).

Виділення двох факторів розпушення оболонки не виключає, а доповнює ефект «кислого росту» згідно з яким ауксин, індукуючи розтягнення оболонки, викликає вихід протонів з цитоплазми; H^+ активує в апопласті ферменти гідролізу і синтезу полісахаридів і руйнує певні зв'язки полісахаридів (Cleland, 1979). Ефект «кислого росту» належить до таких тканин: колеоптилей вівса, епикотилів гороху й гіпокотилів сої.

Встановлено, що при дії ауксину ріст клітини здійснюється в два етапи (Cleland, 1979): перший – при постійному закисленні апопласта або середовища, що свідчить про вихід протонів; другий – є наслідком комплексної дії ауксинзалежних процесів, включаючи антипорт H^+/K^+ , активацію АТФаз і екзоцитоз везикул Гольджі, рН яких < 2 (Masuda, 1977; 1985).

Дія фітогормонів на оболонку виявляється в певних змінах, які відбуваються поетапно в часі: закислення апопласту, розпушення полісахаридів оболонки, активація ферментів гідролізу і синтезу, синтез нових структурних компонентів оболонки, а також у змінах цитоплазми – посилення синтезу РНК, синтез білків і зміни біоелектричної реакції (Полевой, 1986; Тарчевский, Маченко, 1985).

Закислення клітинних оболонок – один з ранніх етапів відповіді на дію ауксину, цей етап досліджений за допомогою різних електродів на інтактних тканинах і тканинах, позбавлених кутикули в одно- і дводольних рослин. Встановлено, що ефект ІОК на закислен-

ня середовища і розтягнення оболонки залежить від наявності у ній іонів кальцію і магнію (Cleland, 1976; Hasenstein, Evans, 1980).

Припускають, що початкове підсилення росту під дією ауксину, залежить від синтезу коротко живучих білків, пов'язаних як з активацією H^+ -помпи, так і з другою фазою ауксин-залежних процесів (Vesper, 1985). Використання інгібітора синтезу білка циклогексиміду (ЦГ) за 5 хв. до внесення ІОК знижувало ауксинзалежний ріст відрізків колеоптилів кукурудзи у 2,5 рази й зупиняло ауксиніндуковане виділення H^+ у відрізках колеоптилів вівса (Cleland, 1976) за 3-8 хв.

АТФази й редокс-ланцюг можуть функціонувати як механізм активного транспорту протонів. Вважають, що K^+ -активована, Mg^{++} -залежна АТФаза, яка нечутлива до оубаїну, олігоміцину й азиду, але інгібується N,N^1 -дициклогексилкарбодимідом (ДЦКД), ортованадом і сульфідрильними реагентами, виконує функції H^+ -помпи на плазмалемі (Ладыженская, Кораблева, 1985; Полевой, 1986). Оскільки протопласт при дії ІОК посилює поглинання K^+ (Cleland, 1976), то, ймовірно, що H^+ -помпа працює в режимі уніпорту, тобто на плазмалемі працюють дві різні H^+ -помпи (Бумагина, Полевой, 1984). Редокс-система бере участь у процесі транспортування іонів і використовує як джерело енергії окислення $НАДН^+$.

Наступний етап дії ауксину на закислення середовища – це розпушення оболонки й збільшення її в'язкості, механізм якого пов'язаний з розривом водневих зв'язків між ксилоглюканами й целюлозою та видаленням з оболонки кальцію, який, як відомо, зв'язаний поперечними зв'язками з пектинами (Tagawa, Bonner, 1957). Вихід Ca^{++} з апопласта при закисленні оболонки, очевидно, порушує його баланс і гомеостаз оболонки, і тоді кальцій виступає в ролі вторинного посередника, активуючи ряд ферментів апопласта. В оболонці збільшується активність трансглюкозилаз і гідролаз, які порушують поперечні зв'язки в полісахаридах, перебудовуючи полісахариди по-новому, доки не утворюються нові поперечні зв'язки (Cleland, Rayle, 1977), і не змінюється молекулярна структура полісахаридів.

Виявлено збільшення активності β -глюкозидази, β -галактозидази і β -манозидази (Jonson et al., 1974; Tanimoto, Igari, 1976), а також целюлази в стеблах гороху (Fan, Maclachlan, 1976), що зумовлено збільшенням синтезу РНК (Verma et al., 1975). Дж. Маклахлен (Maclachlan, 1977) зробив висновок, що целюлаза підвищує рівень целюлози, але не бере участь у розпушенні оболонки. Ауксин також стимулював у колеоптилів ячменю підвищення активності 1,3- β -глюканази (Tanito, Masuda, 1968), яка, як відомо, приводить до виходу з оболонок глюкана. При ауксиніндукованому рості клітин також спостерігається вихід з оболонок арабінози, ксилози і ксилоглюкана у епікотилів гороху (Labvitch, Ray, 1974).

Оскільки для фітогормонів характерна тривалість дії на клітинні оболонки, то після додавання ІОК дослідникам удалося спостерігати певний ефект у стеблах гороху: через 3-4 доби активність целюлази збільшувалась у 30 разів, β -1,3-глюканази – в 3,5 раза, пектиназ – у 7 разів, активність пектинестерази не змінилась (Datko, Maclachlan, 1968). Активація літичних ферментів змінює склад матрикса, білків і целюлози оболонок (Coartney, Morre, 1980), як наслідок відбувається розщеплення і перетворення вуглеводних полімерів оболонки.

Ю. Масуда (Masuda, 1985), вивчаючи дію ауксину на ріст стебел вівса й гороху, тобто представників одно- і дводольних рослин, встановив, що на початковій фазі впливу ІОК відбувається часткова деградація нецелюлозних компонентів, що, можливо, є наслідком порушення механічних властивостей оболонок. Так, у тканинах однодольних автори спостерігали часткову деградацію ксилоглюканів і β -(1-3)-глюканів, у тканинах дводольних – деградацію галактанів, деполімеризацію ксилоглюкану і збільшення його вмісту (Logences, Zarra, 1987). Авторадіографічним методом з використанням ^{14}C -сахарози на відрізках епикотилів гороху під дією 10^{-5} М ІОК і кінетину встановлено, що за перші 9 год відбувається збільшення довжини відрізків і зміна текучості галактози, ксилози, манози, фруктози й арабінози, що визначали за зміною включення мітки, а також втрати галактози, особливо знизився вміст арабінів і галактанів. Відмічено, що поперечні розміри відрізків не змінились (Gilkes, Hall, 1977).

Наступний етап дії ауксинів на оболонки – їх посилений ріст, який виявляється в посиленому синтезі целюлози і компонентів матрикса. Індукція синтезу полісахаридів відбувається за рахунок активації ферментів: β -глюкансинтетази, УДФ-галактозозалежної синтетази й УДФ-ксилозозалежної синтетази (Abdul-Baki, Ray, 1971). Гіберелова кислота також посилює синтез полісахаридів. Масуда зі співавторами в перші години після дії ІОК (10^{-5} М) у колеоптилів вівса встановили збільшення вмісту целюлози (паралельно зі змінами складу нейтральних цукрів) і зниження у фракції геміцелюлоз вмісту глюкози, арабінози і ксилози (Sakurai, Masuda, 1977).

Збільшення нецелюлозних цукрів (галактози) паралельно з підвищенням активності β -галактозидази спостерігали через 36 год після дії АБК (50 нМ) на зародкову вісь *Cicer arietinum* (Labrador, et al., 1987). І.А. Тарчевським і Г.М. Марченко (1985) показано посилене включення екзогенної ^{14}C -глюкози в целюлозу волосків насіння бавовнику під час формування первинної й вторинної оболонки під дією ІОК і ГК. Посилення стимуляції синтезу целюлози автори спостерігали при використанні в якості субстрату УДФГ, а не ^{14}C -глюкози.

Обробка рослин етиленом викликала посилений синтез білків, збагачених гідроксипроліном (Chrispeels, 1976). Про синтез полісахаридів під дією ІОК свідчать цитологічні дані. Так, М. Ганінгеймом та Холлом встановлено, що через 15-30 хв. після обробки епикотилів гороху розчином ІОК кількість диктіосом в епідермісі та паренхімних клітинах стебел швидко збільшувалася, що, очевидно, свідчить про посилення синтезу глюканів матрикса оболонки, а також про їхній швидкий транспорт до цитоплазматичної мембрани (Gunninghame, Hall, 1985). Відомо, що диктіосоми є основною клітинною структурою, що відповідає за синтез і транспорт глюкансинтетази (Robinson et al., 1976), і тому участь апарату Гольджі у процесах синтезу і транспорту полісахаридів при дії ІОК очевидна.

Раніше вважали, що ауксин-індуковане розпушення оболонок пов'язане із збільшенням тургору (Cleland, 1971), величина якого залежить від виду рослини і типу тканини. Проте подальші дослідження не виявили такої кореляції. Встановлено, що розпушення оболонки знижує тургор, підвищує поглинання K^+ (Cleland, 1976) та амілолітичну активність (Cleland, 1986). Проте збільшення тургору може привести і до розтягу клітинної оболонки у випадку відсутності індукції гормоном (Cleland, 1981).

1.8. Моделі структури клітинної оболонки

Оболонка надає клітині форму й міцність, змінюючись під час росту клітини та диференціації тканин за рахунок відкладення нових складових: полісахаридів та інкрустуючих речовин (кутину, воску, калози та/або лігніну). Перш ніж розглядати моделі структури клітинних оболонок, необхідно зупинитися на структурованості шарів целюлози в оболонці. Відомо, що оболонка складається з кількох шарів: серединний шар – це серединна ламела, яка формується ще під час ділення клітини, тобто первинна оболонка лежить біля плазмалеми, вона продовжує рости під час росту клітини, відсовуючись від цитоплазматичної мембрани назовні. Згідно раніше запропонованої багатосітчастої гіпотези (Roelofsen, Houwink, 1953), новоутворені шари целюлози лежать на внутрішній стороні оболонки біля плазмалеми (поперечно до ростучої осі клітини), коли ж клітина видовжується, то шари оболонки змінюють напрямок і розміщуються паралельно до напрямку росту, зовнішні шари – розміщуються вздовж осі росту (Preston, 1982). Це стосується в основному паренхімних клітин. Тоді як для інших типів клітин, наприклад, епідермісу, характерна поліламелярна структура (Chafe, 1972).

Показано, що під час диференціювання клітин, коли первинна оболонка вже закінчила свій ріст, продовжує добудовуватися вторинна оболонка. Первинна оболонка стає частиною серединної пластинки. Вторинна оболонка складається із зовнішнього шару (S1), дуже товстого середнього шару (S2) та внутрішнього шару (S3), який опирається на цитоплазматичну мембрану (див. рис. 1.8.1, який у збільшеному вигляді подано у розділі 1.5.4 – ЛІГНІН).

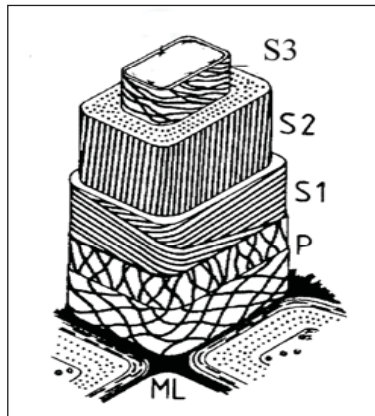


Рис. 1.8.1 Схематичне зображення основних шарів клітинної оболонки. P – первинна оболонка, та вторинна оболонка – S. Вторинна оболонка складається із зовнішнього шару – S1, середнього – S2, та внутрішнього – S3, ML – серединна ламела. Целюлозні мікрофібрили орієнтовані під різними кутами (спрощено за Fengel and Wegener, 1984)

На початку 70-их років минулого століття Кігстра зі співавт. запропонували модель структури клітинної оболонки, згідно якої матрикс оболонки розрихляється завдяки ферментативному гідролізу (рис. 1.8.2, А) (Keegstra et al., 1973). Згідно цієї моделі, полісахариди матриксу оболонки (ксилоглюкан та пектини) зв'язуються ковалентними зв'язками

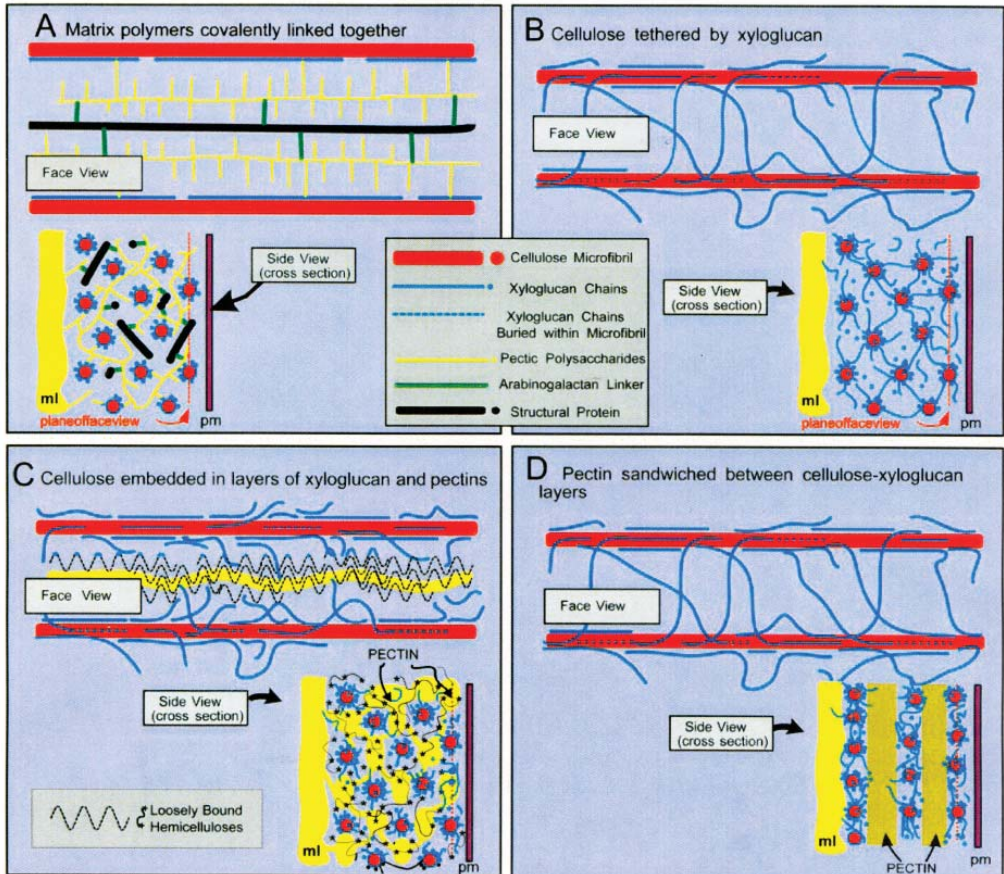


Рис. 1.8.2. Альтернативні моделі структури клітинної оболонки (Cosgrove, 2001).

А – Модель Кігстра та ін. (Keegstra et al., 1973), згідно якої полімери матрикса ковалентно зв'язані один з одним та закорені на целюлозі за допомогою водневих зв'язків ксилоглюканів;

В – модель зв'язаної сітки за Фрай (Fry, 1989), згідно якої окремі ланцюги ксилоглюкану розміщені між мікрофібрилами целюлози й зв'язують останні. Пектини та структурні білки не вказані, але вони розміщуються між ланцюгами ксилоглюкану.

С – Модель подібна “мультиковдрі” за Тельбот та Рей (Talbot, Ray, 1992), згідно якої мікрофібрили целюлози безперервно вкриваються шарами полісахаридів матриксу.

Д – Пошарова модель за Ха та ін. (Ha et al., 1997), згідно якої шар пектинових полісахаридів розділяє целюлозо-ксилоглюканову ламелу. Позначення: pm – плазмалема, ml – серединна ламела.

у сітку, утворюючи великі макромолекули сітчастої структури. За умови низького (кислого) рН в апопласті послаблюються водневі зв'язки між ксилоглюканами та мікрофібрилами целюлози. Згідно теорії кислого росту, H^+ -АТФаза відкачує іони водню із цитозолу в апопласт, і цим самим підкислює його та активує гідролітичні ферменти (Hager 2003), які беруть участь у рості оболонки, а саме ферменти, що розривають ковалентні зв'язки та трансглікозилюють чи розривають і нековалентні зв'язки (Cosgrove 2005). До ферментів, що розрихляють клітинну оболонку, відносяться ксилоглюкангідролаза (XGH) та ксилоглюкан ендотрансглюкозилаза (ХЕТ), які активуються лише при кислих значеннях рН апопласту (Fry *et al.* 1992). До них відносяться й апопластні експансини, що активуються також лише за кислих умов апопласта (Cosgrove, 2005), послабляючи нековалентні зв'язки (H^+ -зв'язки) між полісахаридами, і таким чином, оболонка розтягується, завдяки розпушенню целюлозо-геміцелюлозо-пектинової сітки (Rayle, Cleland 1970; Hager *et al.* 1971; Cosgrove, 2005).

Але пізніше було доведено недосконалість цієї гіпотези (рис. 1.8.2, В), і як вважає Фрай (Fry, 1989) мікрофібрили целюлози зв'язані прямо з ланцюгами ксилоглюканів, тоді як пектини та структурні білки утворюють незалежну сітку, яка фізично притягує целюлозо-ксиланову сітку, але вже нековалентними зв'язками.

Телбот та Рей запропонували модель, подібну до «ковдри», згідно якої кожна мікрофібрила целюлози обгорнута (вкрита) незначним шаром полісахаридів матриксу (рис. 1.8.2, С), які зв'язані латеральними нековалентними зв'язками (Talbot, Ray, 1992).

Згідно моделі Ха та його колег, оболонка являє собою пошарову структуру: пектинові шари служать розділяючим шаром між целюлозо-геміцелюлозних ламел (рис. 1.8.2, D) (Ha *et al.*, 1997). Можливо, що пектинові шари контролюють товщину оболонки та дозволяють прослизнути пектину матрикса між целюлозно-геміцелюлозними шарами, які, як вважають, контролюють розтяг оболонки. За даними Томпсона та Фрай (Thompson, Fry, 2000) невелика кількість ксилоглюкану дійсно прикріплюється до пектинових полісахаридів. І таким чином, відновлюється модель кислого росту, згідно якої мікрофібрили целюлози вкриті ксилоглюканом (рис. 1.8.3) (Nesar Uddin, 2012).

Таким чином, ми бачимо наявність розбіжностей при створенні моделей структури оболонок. А саме, автори припускають, що полісахариди матриксу (ксилоглюкани, пектини та глікобілки) зв'язані ковалентно один з одним і що спонтанний зв'язок ковалентно з'єднує ксилоглюкан із поверхнею мікрофібрил целюлози, що надає оболонці міцність та певну еластичність (Keegstra *et al.*, 1973; Albersheim, 1976). Інші дослідники дотримуються протилежної думки, а саме про наявність нековалентних зв'язків між складовими оболонки, що може обумовлювати наявність двох незалежних сіток. Одна сітка складається з пектинових полісахаридів (HG, RGs, та RG-II), друга – із целюлози та ксилоглюкану (McCann, Roberts, 1991; 1994). Крім цього, додаткова сітка складових глікобілка (екстенсину) також може існувати в первинній оболонці.

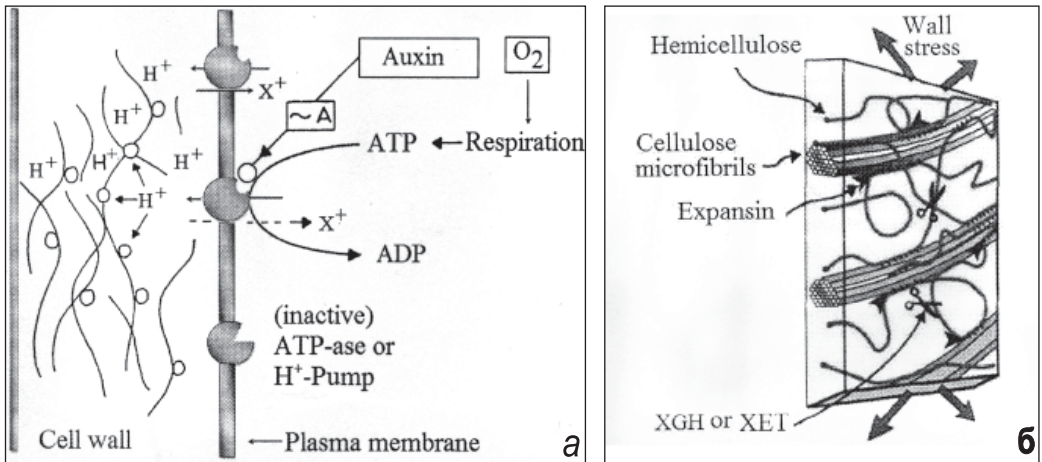


Рис. 1.8.3. Схематична модель подій в апопласті та цитоплазмі згідно теорії кислого росту (а) (Hager *et al.* 1971) та модель стрес-релаксації й росту клітинної оболонки (б) (Cosgrove, 1997), яка настає за умов активації ауксину та H⁺-АТФази, що відкачує протони із цитоплазми в апопласт. Позначення: XGH – ксилоглюкангідролаза, XET – ксилоглюкан-ендотрансглюкозилаза. (Nesar Uddin, 2012)

На користь першої моделі (кислого росту) можуть служити дані про наявність численних ферментів, які здатні модифікувати полісахариди матрикса (Fry, 1995) (див. підрозділ «Білки оболонки»), а саме, наявність ендоглюканаз, що здатні розрізати основу матрикса полісахаридів, глікозидаз, які можуть переміщувати бокові ланцюги, змінюючи зв'язки між основою полісахаридів, трансглюкозилаз, які можуть розрізати полісахариди та зв'язувати їх разом, естераз, що можуть зміщувати метильні групи пектинів та розколювати ефірні зв'язки між ланцюгами полісахаридів; а також пероксидаз, що утворюють чи руйнують фенольні зв'язки в оболонці (Cosgrove, 2001). Крім цього, дослідники відкрили цілу родину білків екпансів (Cosgrove *et al.*, 1997), які відрізняються субстратом дії. Екпансини індують розтяг та стрес-релаксацію в ізолюваних клітинних оболонках, але не гідролізують основні полісахариди оболонки (McQueen-Mason *et al.*, 1992). Гени, що відповідають за їхню експресію, знайдені в клітинах, що ростуть.

Зв'язок ксилоглюкану з целюлозою. Целюлозо-ксилоглюканова сітка, як думають, є основою структури клітинної оболонки. Ксилоглюкан досить спонтанно та стійко зв'язується з мікрофібрилами целюлози, навіть за умов *in vitro* (Valent, Albersheim, 1974), тоді як пектинова сітка, скоріше за все, відіграє функцію підмостків (як риштування на будівництві), що контролюють пористість та електростатичні зв'язки із позитивно зарядженими молекулами, такими як ферменти та іншими молекулами. Крім того, пектинова сітка може функціонувати, як сенсор при механічному стресі або ж при еластичній деформації, тому ця сітка змінюється за умов змін активності ферментів, що контролюють швидкість синтезу полісахаридів оболонки (O'Neill, York, 2003).

Згідно Карпіта та Жибо (Carpita, Gibeaut, 1993; 1996) первинна оболонка трав відрізняється за складом від оболонок дводольних та диких видів однодольних рослин (рис. 1.8.4), а також за вмістом та з'єднанням полісахаридів. У клітинних оболонках однодольних рослин дуже мало ксилоглюканів. Ксилоглюкан, довжина молекул якого може досягати 500 нм, покриває мікрофібрили, що тільки сформувалися, обмежуючи їхнє злипання між собою, і таким чином відбувається регулювання механічних властивостей оболонки (Whitney *et al.*, 1995).

Молекулярну «мотузку» мікрофібрил целюлози можна побачити в електронному мікроскопі при використанні методу заморожування-сколювання. Вважають, що фермент ендотрансглікозилаза може функціонувати для розриву молекул ксилоглюкана на короткі фрагменти, які переносяться на нередукований кінець акцептора-субстрату для формування ксилоглюканового комплексу з високою молекулярною масою, який і утворює сітку з мікрофібрилами целюлози (Fry *et al.*, 1992; O'Neill, York, 2003).

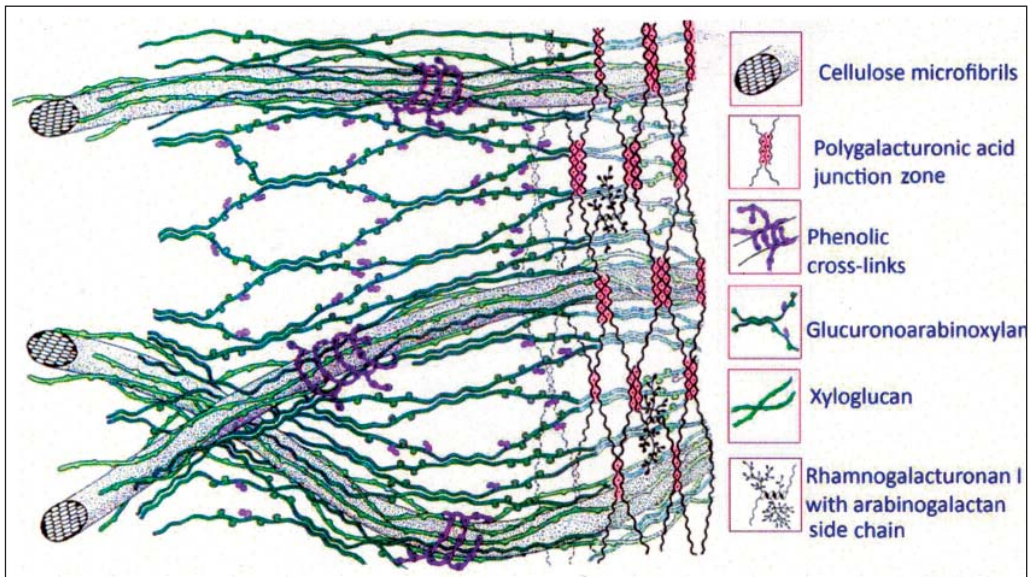


Рис. 1.8.4. Схематична модель побудови первинної оболонки другого типу (у трав'янистих) (Carpita, Gibeaut, 1993; Nesar Uddin, 2012). За цією моделю мікрофібрили целюлози вкриті геміцелюлозами, такими, як глюкуроноарабіноксилани (GAX), що зв'язуються із поліфенольними кислотами поперечними зв'язками. Пектини формують гідратований матрикс-гель, в який включені інші полісахариди (Brett, Waldron 1996), а можливо, і білки (Nesar Uddin, 2012)

Вважають, що саме два домена ксилоглюкана утворюють сітку з мікрофібрилами целюлози. Перший домен контактує із целюлозою непрямим способом, другий – прямо зв'язується з мікрофібрилою целюлози, тоді як третій домен зв'язує кристалічні одиниці мікрофібрил целюлози. Ці домени відрізняються між собою часом вивільнення протонів. Найбільш мобільний домен, що гідратує матрикс оболонки – це другий домен (Ha *et al.*,

1997). Ріст оболонки супроводжується розтягом сітки ксилоглюкан-целюлоза з утворенням глікозидних та ковалентних зв'язків у ксилоглюкановій «мотузці». Ксилани довжиною до 33 нм (біля 20 Кда) зв'язуються із целюлозою, довжина ксилоглюканових доменів контролюється ферментом ксилан-ендоглюканазою (Itoh, Ogawa, 1993; Whitney et al., 1995).

Зв'язок пектинів із целюлозою. Більшість дослідників вважають, що у дводольних пектини, що складаються з гомогалактуронанів (HGA), рамногалактуронанів I та II (RG-I, та RG-II) та зв'язуються між собою ковалентними зв'язками, контролюють як пористість клітинних оболонок, так і їхні фізичні властивості (O'Neill et al., 2003; 2004). Відомо, що HGA та RG-II є високо розгалуженими пектинами, вони зв'язуються між собою та з іншими полісахаридами поперечно. Згідно деяким дослідникам (Perrone et al., 1998; Thompson, Fry, 2001), саме ксилоглюкани та частина глікобілків зв'язані з пектинами ковалентними зв'язками.

Недавно Перез зі співавторами (Perez et al., 2011), використовуючи одночасно метод ядерногомагнітного резонансу та міченого вуглецю (в рідкому середовищі використовували мічену ^{13}C -глюкозу) на рослинах *Arabidopsis thaliana*, встановили наявність внутрішньомолекулярних зв'язків целюлози, геміцелюлоз та пектинів, і доказали зв'язок усіх трьох типів полісахаридів в оболонці (рис. 1.8.5). Вони показали, що пектини зв'язуються з мікрофібрилами целюлози так само, як і геміцелюлози.

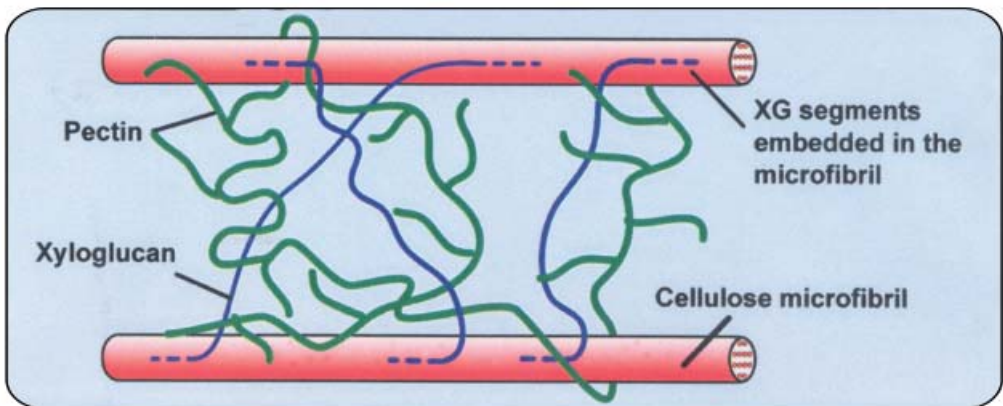


Рис. 1.8.5. Нова структурна модель рослинної оболонки. Пектини (зелена крива лінія) показують численні зв'язки з поверхнею мікрофібрил целюлози, які позначені червоним кольором; ксилоглюкани (позначені синіми лініями) показують протяжність численних просторових переміщень у середині мікрофібрил целюлози (Perez et al., 2011)

1.9. Плазмодесми

Для міжклітинного транспорту на короткі та далекі віддалі в рослинних клітинах утворюються структури, що мають назву плазмодесми (ПД), вони представляють собою короткі канали, які проходять через клітинну оболонку. Через ПД відбувається транспорт сигналів, різноманітних молекул, асимілятів та фітогормонів (Курсанов, 1976; Terry, Robards, 1987). Ретельно описано функціонування плазмодесм, як складової симпластного транспорту у витоку та пересуванні метаболітів по паренхімних клітинах надземних та підземних органів (Arisz, 1969; Курсанов, 1976). У ранніх роботах було показано, що щільність плазмодесм в оболонці залежить від типу тканини, найбільше їх у С4-рослин, а саме в клітинних оболонках мезофілу та обкладки, де їхня кількість складає $14 \cdot 10^8$ на 1 см^2 площі (Olesen, 1975). За даними літератури, площа, яку займають плазмодесми, становить у середньому біля 1,5 % від поверхні клітин флоєми (у листках пшениці), у інших рослин вона коливається від 0,2 до 8 %. Діаметр плазмодесм варіює, він змінюється в залежності від виду, типу тканини й коливається від 30 до 80 нм. Так, як у сучасній літературі є достатньо робіт стосовно вивчення структури та функції плазмодесм (див: Robards, 1968; Гамалей, 1974; Курсанов, 1976), ми лише коротко зупинимося на останніх даних.

Недавно показано, що через плазмодесми можуть проходити молекули РНК, нуклеїнові кислоти та білки, у тому числі й певні транскрипційні фактори. Первинні плазмодесми утворюються під час цитокінезу, коли формується клітинна пластинка і канал такої плазмодесми сформований лише плазмалемою. Тоді як вторинні плазмодесми формуються між двома вже сформованими оболонками. Плазмодесма за структурою може бути простим чи розгалуженим каналом. Досі невідомо, чи різні за структурою плазмодесми виконують одну чи різні функції. Доказом транспорту білкових молекул через плазмодесми служать праці по ідентифікації молекул міозину 8 у плазмодесмах постцитокінезних оболонок (Reichelt et al. 1999). Саме цей білок відіграє стттеву роль у диференціації клітинної пластинки та рестабілізації актину. Крім цього, у плазмодесмах знайдено білок кальретикулін (Baluska et al. 1999). Через плазмодесми можуть проникати і віруси (розміром до 30 Кда, зокрема, вірус тютювної мозаїки) (Chen et al. 2000).

Досить добре вивчено початкові стадії формування плазмодесм у водоростях, зокрема, у бурій водорості *Dictyota dichotoma*, методом електронної мікроскопії показано, що під час формування везикул в області клітинної пластинки починають формуватися плазмодесмо-подібні перфорації діаметром біля 20 нм. Такі трубчаті канали і є попередниками структури плазмодесм, у водоростей на противагу таким подіям у вищих рослин, канали ЕР не заходять у структуру плазмодесми (Schmitz, 1990).

На рівні ультраструктури середньо-статистична плазмодесма – це пора, діаметр якої становить біля 40 нм, обмежена цитоплазматичною мембраною, всередині ПД є десмотрубочка (діаметром до 2,5 нм) сформована мембранами ЕР (Robards, Lucas 1990), що

показано на електроннограмі та на схемі (рис. 1.9.1, а та б) (Botha, Cross, 2000; Wu et al., 2002). ПД можуть відкриватися й закриватися в залежності від функціонального стану клітини. У процесі диференціювання ситовидних елементів їхні плазмодесми лізують, і на їхньому місці формуються великі пори діаметром 100-400 нм для транспорту речовин на далекі відстані (Schimitsz 1990).

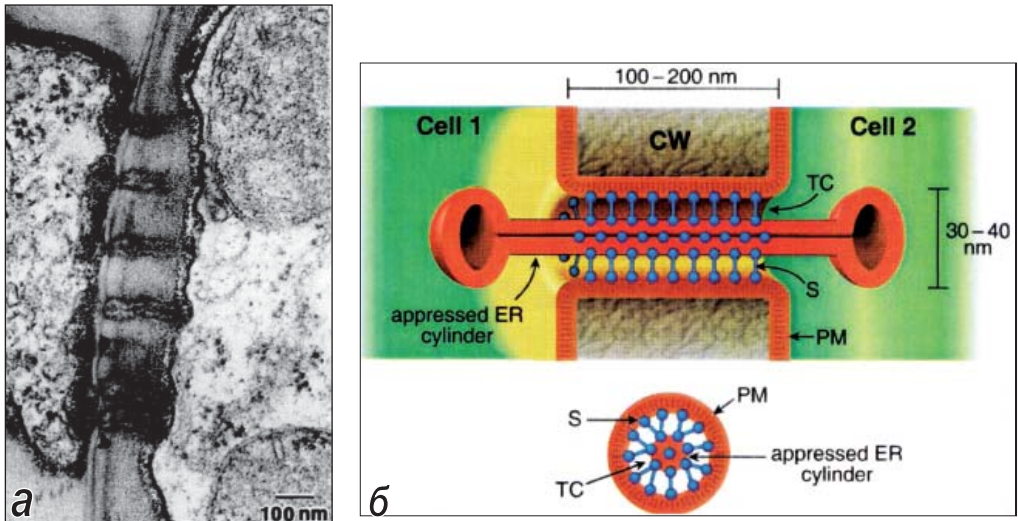


Рис. 1.9.1. а – Мікрофотографія плазмодесм із фрагменту зрізу провідного пучка листка *Bromus unioloides* (Botha, Cross, 2000); б – схема повздовжнього та поперечного зрізів через плазмодесму. Молекули транспортуються по каналу, сформованому з мембран ендоплазматичного ретикулума (ER). Вважають, що молекули також можуть транспортуватися по транспортному каналу (TC) між каналом ER та цитоплазматичною мембраною (PM). Позначення: S – спороподібні структури, зв'язані зі стиснутим каналом ER та із плазмалеюю (PM); CW – клітинна оболонка (Wu et al., 2002)

ПІДСУМКИ

Розширюючи звичайні рамки досліджень складу та функціонування клітинної оболонки рослин, ми взяли за спробу розглянути клітинні оболонки, як структуру клітини, що відповідає не тільки на зміни ендогенних факторів, але й на вплив несприятливих для рослини факторів оточуючого середовища. Численними роботами показано, що клітинна оболонка є високо динамічна структура, що відіграє суттєву роль у рості, розвитку та диференціації клітин і тканин, міжклітинній комунікації та транспортних процесах на далекі відстані. Ретельно описано склад та синтез полісахаридів оболонок, особливо мікрофібрил целюлози й полісахаридів матриксу; проаналізовані білки, що беруть участь у формуванні клітинної оболонки. Менш дослідженими залишаються інкрустуючі речовини оболонки, зокрема, суберин та кутин.

Дослідження субмікроскопічної організації та біохімічних характеристик первинних оболонок у процесі росту розтягом показали, що їхній склад та синтез є майже універсальними для одно- та дводольних рослин. Відмінності полягають у різному співвідношенні складових полісахаридів та білків.

Ми бачимо, що моделі первинних оболонок ґрунтуються в основному на інформації стосовно аналізу різних фракцій із суміші полісахаридів. І це стосується лише даних про структуру полісахаридів. Так, кількісно визначено склад основи молекул основних полісахаридів матриксу, але мало відомо про склад бокових ланцюгів геміцелюлоз, зокрема, рамногалактуронанів. Для повного розуміння структури, формування та організації первинних і вторинних клітинних оболонок на різних фазах росту рослини необхідні додаткові дослідження з використанням молекулярних, імуноцитохімічних та спектроскопічних методів.

Невивченим лишається питання про початкові фази молекулярного механізму формування молекул целюлози, починаючи від розетки (на плазмалемі), утворення молекул праймерів та завершення синтезу молекул целюлози в процесі розвитку та диференціації клітини. Питання про молекулярну регуляцію синтезу кристалічної та аморфної целюлози також поки лишається відкритим. Яким чином регулюється взаємозв'язок між тургором протопласта та синтезом клітинної оболонки? Невідомі також і молекулярні механізми орієнтації мікрофібрил в оболонці. Відкритими лишаються питання про включення та регуляцію зв'язку лігніну з іншими полісахаридами оболонки, особливо, коли у вторинних оболонок припиняється лігніфікація й продовжується відкладення целюлози (Hu *et al.*, 1999).

Дослідження білкового складу клітинних оболонок виявило причетність до генезу оболонок численних родин білків та генів. Частина з цих білків, очевидно, відіграє

структурну роль, і тільки незначна її частка відіграє певну роль у розвитку рослини. Так, глікобілки за даними літератури розглядаються причетними до філогенії (Schultz *et al.*, 1997). При вивченні посттрансляційного процесу секретуючих білків (аопласта та цитоплазми) показано, що продукти одного гену можна знайти в різних типах клітин та на різних стадіях розвитку рослини, і як сказали Міслер та Сабхоф, виникає нова парадигма «статичного геному та динамічного протеому» (the static genome and dynamic proteome) (Missler, Sudhof, 1998). Лишаються відкритими також питання про функції ізоформ білків аопласта, зокрема, у родині генів *CESA*. Крім цього, залишаються недостатньо вивченими наступні питання: яким чином відбувається поперечний зв'язок пектинів, чому пектини в різних клітинах і тканинах відрізняються за складом, та багато інших питань, пов'язаних з експресією генів, що беруть участь у синтезі відповідних ферментів.

ЛІТЕРАТУРА (розділ 1)

- Альбертс Б., Брей Д., Льюис Д. и др. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, 1986, а. – 3. – 296 с.
- Альбертс Б., Брей Д., Льюис Д. и др. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, 1986, б. – 5. – 231 с.
- Барская Е.И., Балина Н.В. О роли каллозы в пыльниках растений // Физиология растений. – 1971. – 18, в. 4. – С. 716–721.
- Бумагина К.Н., Полевой В.В. Сравнительное изучение действия ауксина и фузиоцина на секрецию ионов H^+ , биопотенциал и рост отрезков колеоптилей кукурузы // Вест. Ленингр. Ун-та. – 1984. – N 3. – С. 73–80.
- Буюн Л.І. Тропічні орхідні (Orchidaceae Juss.): репродуктивна біологія та структурно-функціональні адаптації за умов збереження *ex situ*. Автореф. докт дисертації. Київ, – 2011. – 46 с.
- Гамалей Ю.В. Клеточная оболочка // В кн.: Атлас ультраструктуры растительных клеток. Петрозаводск: Изд. Полиграфии и книжной торговли СМ КАССР, 1972. – С. 140-167.
- Гамалей Ю.В. Симпластические связи в мелких жилках *Fraxinus* (к вопросу о транспорте сахаров в листе) // Ботан. журн. – 1974. – 59. – С. 980-987.
- Горшкова А.А., Зверева Г.К. Экология степных растений Тувы. – Новосибирск: Наука, 1988. – 117 с.
- Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. М.: Мир, 1986, а. – 1. – 392 с.
- Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. М.: Мир, 1986, б. – 2. – 312 с.
- Дмитриев А.П. Фитоалексины и их роль в устойчивости растений. – К.: Наук. Думка, 2000. – 208 с.
- Колвин Дж. Структура и образование целлюлозных микрофибрилл // В кн.: Целлюлоза и ее производные. М.: Мир, 1974. – С. 20-46.
- Курсанов А.Л. Транспорт ассимилятов в растении. М.: Изд. Наука, 1976. – 646 с.
- Ладыженская Э.П., Кораблева Н.П. Взаимодействие фитогормонов с цитоплазматической мембраной // Успехи соврем. биол. – 1985. – 99. – С. 226–241.
- Либберт Э. Основы общей биологии. М.: Мир, 1982. – 435 с.
- Недуха О.М. Структура і механізми змін клітинної оболонки рослин при невагомості та кліностатуванні // Дисертація на здобуття вчен. ступеня докт. біол. наук. Київ, Ін-т клітинної біології та генет. інженерії НАН України, 1994. – 344 с.
- Недуха О.М. Гетерофілія у рослин. Київ: Альтерпрес, 2011. – 191 с.
- Недуха О.М. Ультраструктура та склад пігментів листків *Sagittaria sagittifolia* L. // Цитология и генетика. – 2013. – 47. N 5. – С. 47-54.
- Недуха О.М. Порівняльне дослідження калози у підводних та повітряних листках *Sagittaria sagittifolia* L. // Modern Phytomorphology. – 2014. – 6. – С. 331–336.
- Племенкова С.Ф. Поглощение сахаров изолированными протопластами растений в связи с их использованием в синтезе полисахаридов регенерирующейся клеточной стенки // Автореф. Канд. дисс. – Казань: Ин-т биологии АН СССР, 1985. – С. 1–22.
- Полевой В.В. Роль ауксина в системах регуляции у растений. Л.: Наука, 1986. – С. 1–78.
- Полевой В.В., Саламатова Т.С. О механизме действия ауксина на мембранный транспорт ионов водорода // Физиология растений. – 1975. – 22. – С. 519–526.
- Полевой В.В., Саламатова Т.С., Максимов Г.Б., Полова Р.К. Действие ауксина на рост и потенциал отрезков колеоптилей кукурузы // Рост и гормональная регуляция жизнедеятельности растений. Иркутск, 1974. – С. 47–66.
- Попова А.Ф., Иваненко Г.Ф., Устинова А.Ю., Заславский В.А. Локализация каллозы в микроспорах и пыльцевых зернах растений в условиях разного водного режима // Цитология и генетика. – 2008. – 42, N 6. – С. 3–7.
- Тарчевский И.А., Марченко Г.Н. Биосинтез и структура целлюлозы. М.: Наука, 1985. – 280 с.
- Фрей-Висслинг А., Мюлленталер К. Ультраструктура растительной клетки. М.: Мир, 1968. – 451 с.

- Хассид У.З. Биосинтез целлюлозы и сопутствующих ей природных полисахаридов клеточных стенок // Целлюлоза и ее производные. М.: Мир, 1974. – С. 5–19.
- Хоркавцев Я.Д., Кардаш О.Р., Демкив О.Т. Применение флуоресцентного красителя Calcofluor white MR2 New для анализа клеточных стенок протонемы мхов // Укр. ботан. журнал. – 1984. – **41**. – С. 81–84.
- Abdel-Massih R.M., Baydoun E.A.H., Brett C.T. *In vitro* biosynthesis of 1, 4- β -galactan attached to pectin-xyloglucan complex in pea // *Planta*. – 2003. – **216**. – P. 502-511.
- Abdul-Baki A.A., Ray P.M. Regulation of carbohydrate metabolism involved in cell wall synthesis by pea stem tissue // *Plant Physiol.* – 1971. – 47. – P. 537-544.
- Adair W.S., Snell W.J. The *Chlamydomonas reinhardtii* cell wall: Structure, biochemistry, and molecular biology // *Organization and Assembly of Plant and Animal Extracellular Matrix*. Eds. Adair W.S., Mecham R.P. – N.Y.: Acad. Press, 1990. – P. 15-84.
- Adler E. Lignin Chemistry – Past, Present and Future // *Wood Science and Technology*. – 1977. – **11**. – P. 169–218.
- Aidemark M., Carl-Johan Andersson C-J., Rasmusson A.G., Widell S. Regulation of callosesynthase activity *in situ* in alamethicin-permeabilized Arabidopsis and tobacco suspension cells // *BMC Plant Biology*. – 2009. – **9**. – P. 1–13.
- Albersheim P. The primary cell wall // *Plant Biochemistry*, 3rd edn. Eds. J. Bonner, J. Varner, Acad. Press, New York, 1976. – P. 225–274.
- Albersheim P., Darvill A.G. Oligosaccharins // *Sci. Amer.* – 1985. – **253**. – P. 44–50.
- Albersheim P., Darvill A.G., O'Neill M.A. et al. An hypothesis: the same six polysaccharides are components of the primary cell walls of all higher plants. // In: *Pectins and Pectinases*. Eds. Visser J., Voragen A.G.J. Amsterdam: Elsevier Sci., 1996. – P. 47-53.
- Alberts P., Johnson A., Lewis J., et al. *Molecular Biology of the Cell*. N.Y.: Garland, 2002. – 1463 p.
- Allen A.K. Potato lectin a glycoprotein with two domains // *Chemical Taxonomy, Molecular Biology, and Function of Plant Lectins*. Eds. Goldstein I.J., Etzler M.E.. N.Y.: Alan R. Liss, 1983.
- Allen A.K., Desai N.N., Neuberger A., Creeth J.M. Properties of potato lectin and the nature of its glycoprotein linkages // *Biochem. J.* – 1978. – **171**. – P. 665-674.
- Allen A.K., Neuberger A. The purification and properties of the lectin from potato tubers, a hydroxyproline-containing glycoprotein // *Biochem. J.* – 1973. – **135**. – P. 307-314.
- Aloni J., Delmer D.P., Benziman M. Achievement of high rates of *in vitro* synthesis of 1,4- β -D- glucan: activation by cooperative interaction of the *Acetobacter xylinum* enzyme system with GTP, polyethylene glycol, and a protein factor // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1982. – **79**. – P. 6448–6452.
- Amino S., Komomine A. Turnover of cell wall polysaccharides during the cell cycle in a synchronous culture of *Caharanthus roseus* // *Plant Cell Physiol.* – 1985. – **26**. – P. 745–751.
- Amor Y., Haigler C.H., Johnson S. et al. A membrane-associated form of sucrose synthase and its potential role in synthesis off cellulose and callose in plants // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1995. – **92**. – P. 9353–9357.
- Andrawis A., Solomon M., Delmer D. Cotton fiber annexins: a potential role in the regulation on callose synthase // *Plant J.* – 1993. – **3**. – P. 763–772.
- Aoyama W., Sasaki S., Matsumura S., et al. Sinapyl alcohol-specific peroxidase isoenzyme catalyzes the formation of the dehydrogenative polymer from sinapyl alcohol // *J. Wood Sci.* – 2002. – **48**. – P. 497-504.
- Apostolakos P., Galatis B. Microtubule and actinfilament organization during stomatal morphogenesis in the fern *Asplenium nidus*. II. Guard cells // *New Phytologist*. – 1999. – **141**. – P. 209–223.
- Apostolakos P., Livanos P., Nikolakopoulou T.L., Galatis B. Callose implication in stomatal opening and closure in the fern *Asplenium nidus* // *New Phytol.* – 2010. – **186**. – P. 623–635.
- Apostolakos P., Livanos P., Nikolakopoulou T.L., Galatis B. The role of callose in guard-cell wall differentiation and stomatal pore formation in the fern *Asplenium nidus* // *Ann. Bot.* – 2009. – **104**. – P. 1373-1387.
- Appenzeller L., Doblin M., Barreiro R. et al. Cellulose synthesis in maize: isolation and expression analysis of the cellulose synthase (CesA) gene family // *Cellulose*. – 2004. – **11**. – P. 287-299.

- Arisz W.H. Intracellular polar transport and the role of the plasmodesmata in coleoptiles and Vallisneria leaves // Acta Bot. Neerl. – 1969. – **18**. – P. 14-38.
- Arrieta-Baez D., Stark R.E. Modeling suberization with peroxidase-catalysed polymerization of hydroxycinnamic acids: cross coupling and dimerization reactions // Phytochemistry. – 2006. – **67**. – P. 743–753.
- Asada T., Shibaoka H. Isolation of polypeptides with microtubule translocating activity from phragmoplasts of tobacco BY-2 cells // J. Cell Sci.- 1994. – **107**. – P. 2249-2257.
- Asada T., Sonobe S, Shibaoka H. Microtubule translocation in the cytokinetic apparatus of cultured tobacco cells // Nature. – 1991. – **350**. – P. 238–241.
- Ashford D., Desai N.N., Allen A.K et al. Structural studies of the carbohydrate moieties of lectins from potato (*Solanum tuberosum*) tubers and thorn apple (*Datura stramonium*) seeds // Biochem. J. – 1982. – **201**. – P. 199-208.
- Aspinall G.O., Kessler G. The structure of callose from the grape vine // Chem. Ind. (London). – 1957. – P. 1296.
- Atalla R.H., Agarwal U.P. Raman microprobe evidence for lignin orientation in the cell walls of native woody tissue // Science. – 1985. – **227**. – P. 636-638.
- Averyhart-Fullard V., Datta K., Marcus A. A hydroxyroline-rich protein in the soybean cell wall // Proc.Natl. Acad. Sci. USA. – 1988. – **95**. – P. 1082-1085.
- Ayoama W., Sasaki S., Matsumura S. et al. Sinapyl alcohol-specific peroxidase isoenzyme catalyses the formation of the dehydrogenative polymer from sinapyl alcohol // J. Wood Sci. – 2002. – **48**. – P. 497–504.
- Bacic A., Harris P.J., Stone B.A. The Biochemistry of Plants. Ed. Priess J. – N.Y.: Acad. Press, 1988. – 297 p.
- Baker P.F., Knight D.E. Exocytosis: control by calcium and other factors // Brit. Mrd. Bull. – 1986. – **42**. – P. 399–404.
- Baluska F., Liners F., Hlavacka A. et al. Cell wall pectins and xyloglucans are internalized into dividing root cells and accumulate within cell plates during cytokinesis // Protoplasma. – 2005. – **225**. – P. 141–155.
- Baluska F., Samaj J., Napier R., Volkmann D. Maize calreticulin localizes preferentially to plasmodesmata in root apex // Plant J. – 1999. – **19**. – P. 481–488.
- Bao W., OMalley D.M., Sederoff R.R. Wood contains a cell-wall structural protein // Proc. Natl. Acad.Sci. USA. – 1992. – **89**. – P. 6604-6608.
- Barratt D.H., Kolling K., Graf A. et al. Callosesynthase *GSL7* is necessary for normal phloem transport and inflorescence growth in Arabidopsis^{[WJ]OA} // Plant Physiology. – 2011. – **155**. – P. 328–341.
- Barthlott W., Ehler N. Raster elektronenmikroskopie der Epidermis-Oberflä Echen on Spermatophyten Tropische und subtropische Pflanzenwelt. – Germany: Akademie der Wissenschaften und Literatur Mainz. Wiesbaden. Franz Steiner Verlag mbH., 1977.
- Barthlott W., Neinhuis C., Cutler D. Et al. Classification and terminology of plant epicuticular waxes // Bot. J. Linnean. Soc. – 1998. – **126**. – P. 237–260.
- Bartley I.M., Knee M., Casmoir M.A. Fruit softening. I. Change in cell wall composition and endopolygalacturonase in ripening pears // J. Exp. Bot. – 1982 – **33** – P. 1246–1255.
- Baskin T. On the alignment of cellulose microfibrils by corticalmicrotubules: a review and a model // Protoplasma. – 2001. – **215**. – P. 150–171.
- Baskin T., Beemster G.T., Judy-March J., Marga F. Disorganization of cortical microtubules stimulates tangential expansion and reduces the uniformity of cellulose microfibril alignment among cells in the root of Arabidopsis // Plant Physiol. – 2004. – **135**. – P. 2279-2290.
- Baskin T.I., Meeke H.T., Liang B.M., Sharp R.E. Regulation of growth anisotropy in well-watered and water-stressed maize roots. II. Role of cortical microtubules and cellulose microfibrils // Plant Physiol. – 1999. – **119**. – P. 681–692.
- Baskin T. I., Cande W. The structure and function of the mitotic spindle in flowering plants // Ann. Rev. Plant Phys. – 1990. – **41**. – P. 277-315.
- Baucher M., Monties B., Van Montagu M., Boerjan W. Biosynthesis and genetic engineering of lignin // Crit Rev. Plant Sci. – 1998. – **17**. – P. 125-197.
- Bayer W.D., Talmadge K.W., Keegstra K. et al. The structure of plant cell walls. II. The hemicelluloses of the walls of suspension-cultured sycamore cells // Plant Physiol. – 1973. – **51**. – P. 174–187.
- Beichert D. W., Bruse M., Hage, W., Meyer R. Fluid mechanics of biological surfaces and the in technological application // Naturwissenschaften. – 2000. – **87**. – P. 157–171.

- Becker M., Kerstein G., Scjnherr J. Water permeability of plant cuticles: permeance, diffusion and partition coefficients // *Trees*. – 1986. – **1**. – P. 54-60.
- Beeckman T., Przemeck G.K.H., Stamatiou G. et al. Genetic complexity of cellulosesynthase A gene function in *Arabidopsis* embryogenesis // *Plant Physiol.* – 2002. – **130**. – P. 1883–1893.
- Berglund G.I., Carlsson G.H., Smith A.T. et al. The catalytic pathway of horseradish peroxidase at high resolution // *Nature*. – 2002. – **417**. – P. 463–468.
- Bernards M.A., Razem F.A. The poly(phenolic) domain of potato suberin: a non-lignin cell wall bio-polymer // *Phytochemistry*. – 2001. – **57**. – P. 1115–1122.
- Bessueille L., Bulone V.A. Survey of cellulose biosynthesis in higher plants // *Plant Biotechnology*. – 2008. – **25**. – P. 315–322.
- Beyer M., Lay S., Knoche M. Studies on water transport through the sweet cherry fruit surface. IX. Comparing permeability in water uptake and transpiration // *Planta*. – 2005. – **220**. – P. 474–485.
- Boerjan W., Ralph J., Baucher M. Lignin biosynthesis // *Ann. Rev. Plant Biol.* – 2003. – **54**. – P. 519–546.
- Bohl E.L., Goreau T.F. Rates of turnover and net accretion of calcium and the role of calcium binding polysaccharides during calcification in the calcareous alga *Hallimeda opuntia* // *Internat. Rev. Gesellschaft Hydrobiol.* – 1973. – **58**. – P. 723–740.
- Borowitzka M.A. Calcification in aquatic plants // *Plant, Cell and Environment*. – 1984. – **7**. – P. 457–466.
- Botha C., Cross R.H. Towards reconciliation of structure with function in plasmodesmata— who is the gatekeeper? // *Micron*. – 2000. – **31**. – P. 713–721.
- Botha C.E.J., Matsiliza B. Reduction in transport in wheat (*Triticum aestivum*) is caused by sustained phloem feeding by Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) // *S. Afr. J. Bot.* – 2010. – **70**. – P. 249–254.
- Bowles D.J., Northcote D.H. The sites of synthesis and transport of extracellular polysaccharides in the root tissues of maize // *Biochem J.* – 1972. – **130**. – P. 1133–1145.
- Bowles D.J., Northcote D.H. The amounts and rates of export of polysaccharides found within the membrane system of maize root cells // *Biochem. J.* – 1974. – **142**. – P. 139–144.
- Bowling A.J., Brown R.M. Jr. The cytoplasmic domain of the cellulose synthesizing complex in vascular plants // *Protoplasma*. – 2008. – **233**. – P. 115–127.
- Bredemeijer G.M.M., Burg, H.C.J. Peroxidase in suspension cultures of *Haplopappus gracilis* // *Acta Bot. Neerlandica*. – 1986. – **35**. – P. 153-159.
- Brett C.T. Cellulose microfibrils in plants: biosynthesis, deposition and integration into the cell wall // *Internat. Rev. Cytol.* – 2000. – **199**. – P. 161–199.
- Brett C., Waldron K. *Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls* (2nd ed.). Chapman & Hall, London, 1996. – P. 1-253.
- Brown R.M. Cellulose structure and biosynthesis: What is in store for the 21st century? // *J. Polymer. Sci.* – 2004. – **A, 42**. – P. 487-495.
- Brown R.M. The biosynthesis of cellulose // *Macromol. Sci.* – 1996. – **A, 33**. – P. 1345-1373.
- Brownleader M.D., Hopkins J., Mobasher A. et al. Role of extension peroxidase in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedling growth // *Planta*. – 2000. – **210**. – P. 668–676.
- Brummell D.A., Potrykus I., Paris R.W. The role of cell walls acidification and proton-pump stimulation in auxin-induced growth: studies using monensin // *Planta*. – 1984. – **162**. – P. 345–352.
- Buchholz A. Characterization of the diffusion of non-electrolytes across plant cuticles: properties of the lipophilic pathway // *J. Exp. Bot.* – 2006. – **57**. – P. 2501-2513.
- Buckhout T.J., Morre D.J., Yong K.A. et al. Response of isolated plant membranes to auxin: calcium release // *Bot. Gaz.* – 1980. – **141**. – P. 418–421.
- Buckeridge M.S., Vergara C.E., Carpita N.C. In sight into multisite mechanisms of glycosyl transfer in(1/4)b-D-glycans provided by the cereal mixed-linkage (1/3)-, (1/4)b-D-glucan synthase // *Phytochemistry*. – 2001. – **57**. – P. 1045–1053.
- Bureau N., Brown R. *In vitro* synthesis of cellulose II from a cytoplasmic membrane fraction of *Acetobacter xylinum* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1987. – **84**. – P. 6985–6989.
- Burn J.E., Hocart C., Birch R. et al. Functional analysis of the cellulose synthase genes *CesA1*, *CesA2*, and *CesA3* in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2002. – **129** – P. 797-807.

- Burnell J.N.* An enzymatic method for measuring the molecular weight exclusion limit of plasmodesmata of bundle sheath cells of C4 plants // *J. Exp. Bot.* – 1998. – **39**. – P. 1575–1580.
- Burton R.A., Gibeaut D., Bacic A. et al.* Virus-induced silencing of a plant cellulose synthase gene // *Plant Cell.* – 2000. – **12**. – P. 691-705.
- Burton R.A., Shirley N.J., King B.J. et al.* The cesa gene family of barley. Quantitative analysis of transcripts reveals two groups of co-expressed genes // *Plant Physiol.* – 2004. – **34**. – P. 224–236.
- Caelles C., Delseny M., Puigdombnech P.* The hydroxyproline-rich glycoprotein gene from *Oryza sativa* // *Plant Mol. Biol.* – 1992. – **18**. – P. 617-619.
- Cai G., Cresti M.* Are kinesins required for organelle trafficking in plant cells? // *Frontiers in Plant Sci.* – 2012. – **3**. – P. 170
- Campbell N.A., Sitka K.M., Morrison G.M.* Calcium and potassium in the motor organ of the sensitive plant: localization by ion microscopy // *Science.* – 1979. – **204**. – P. 185–187.
- Carpenter R.J., Jordan G.J., Leigh A., Brodribb T.J.* Giant cuticular pores in *Eidothea zoexylocarya* (Proteaceae) leaves // *Amer. J. Bot.* – 2007. – **94**. – P. 1282–1288.
- Carpita N.C.* Structure and biogenesis of the cell walls of grasses // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1996. – **47**. – P. 445-471.
- Carpita N.C.* Up date on mechanisms of plant cell wall biosynthesis: how plants make cellulose and other (1→4)-b-D-Glucans // *Plant Physiol.* – 2011. – **155**. – P. 171-184.
- Carpita N.C., Gibeaut D.M.* Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth // *Plant J.* – 1993. – **3**. – P. 1-30.
- Carpita, M. McCann.* The Cell Wall // In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, Eds. B.Buchanan, W. Gruissem, R.Jones. American Society of Plant Physiology, Rockville, Maryland, 2000, P. 52-103.
- Carpita N., McCann M., Griffing L.R.* The plant extracellular matrix: news from the cell's frontier // *Plant Cell.* – 1996. – **8**. – P. 1451–1463.
- Casalougué C., Pont Lezica R.* Potato lectin: A cell-wall glycoprotein // *Plant Cell Physiol.* – 1985. – **26**. – P. 1533-1539.
- Cassab G.I.* Arabinogalactan proteins during the development of soybean root nodules // *Planta.* – 1986. – **168**. – P.441-446.
- Chafe S.* Fine structural observation on epidermis. I. The epidermis cell wall // *Planta.* – 1972. – **107**. – P. 269-278.
- Chanzy H., Imada K., Mollard A. et al.* Crystallographic aspects of sub-elementary cellulose fibrils occurring in the wall of rose cells cultured *in vitro* // *Protoplasma.* – 1979. – **100**. – P. 303–316.
- Chapple C., Vogt T., Ellis B.E., Somerville C.* Arabidopsis mutant defective in phenylpropanoid pathway // *Plant Cell.* – 1994. – **4**. – P. 1413-1424.
- Chen J., Varner J.E.* Isolation and characterization of cDNA clones for carrot extensin and a proline-rich 33- kDa protein // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1985. – **82**. – P. 4399-4403.
- Chen M.H., Sheng J., Hind G. Et al.* Interaction between the tobacco mosaic virus movement protein and host cell pectin methylesterases is required for viral cell-to-cell movement // *EMBO J.* – 2000. – **19**. – P. 913–920.
- Chen X.Y., Kim J.Y.* Callose synthesis in higher plants // *Plant Signal Behav.* – 2009. – **4**, Issue 6. – P. 489–492.
- Chow C.-M., Neto H., Foucart C., Moore I.* Rab-A2 and Rab-A3 GTPases define a trans-golgi endosomal membrane domain in *Arabidopsis* that contributes substantially to the cell plate // *The Plant Cell.* – 2008. – **20**. – P. 101–123.
- Chrispeels M.J.* Biosynthesis intracellular transport and secretion of extracellular macromolecules // *Ann. Rev. Plant Physiol.* – 1976. – **27**. – P. 19–35.
- Christiernin M.* Composition of Lignin in Outer Cell-Wall Layers // *Doctoral Thesis. Royal Institute of Technology Department of Fibre and Polymer Technology Division of Wood Chemistry and Pulp Technology. Stockholm, 2006.* – P. 1–53.
- Cifuentes C., Bulone V., Emons A.M.C.* Biosynthesis of callose and cellulose by detergent extracts of tobacco cell membranes and quantification of the polymers synthesized *in vitro* // *J. Integrative Plant Biol.* – 2010. – **52**. – P. 221–233.
- Clarke A.E., Anderson R.L., Stone B.A.* Form and function of arabinogalactans and arabinogalactan-proteins // *Phytochemistry.* – 1979. – **18**. – P. 521-540.

- Cleland R.E. Cell wall extension // *Ann. Rev. Plant Physiol.* – 1971. – **22**. – P. 197–22.
- Cleland R.E. Rapid stimulation of $K^+ - H^+$ exchange by a plant growth hormone // *Biochem. Biophys. Res. Com.* – 1976. – **69**. – P. 333–338.
- Cleland R.E. Auxin and H^+ -excretion: the state of our knowledge // *Plant growth substances. Proc. 10th Internat. Conf. on plant growth substances. Madison, 1979.* – P. 71–78.
- Cleland R.E. Wall extensibility: hormones and wall extension // *Encyclop. of Plant Physiol.* Berlin, Heidelberg, N.Y.: Springer, Verlag, 1981. – **13 B.** – P. 255–273.
- Cleland R.E. The role of hormones in wall loosening and plant growth // *Austral. J. Plant Physiol.* – 1986. – **13**. – P. 93–106.
- Cleland R.E., Gosgrove D., Tefter M. Long-term acid-induced wall extension in an *in vitro* system // *Planta.* – 1987. – **170**. – P. 379–385.
- Cleland R.E., Rayle D.L. Reevaluation of the effect of calcium ions on auxin induced elongation // *Plant Physiol.* – 1977. – **60**. – P. 709–712.
- Coartney J.S., Morre D.J. Studies of the chemical basis of auxin induced cell wall lessening // *Bot. Gaz.* – 1980. – **141**. – P. 63–68.
- Cohen J.D., Lilly N. Changes in ^{45}Ca concentration following auxin treatment of protoplast isolated from etiolated soybean hypocotyls // *Plant Physiol.* – 1984. – **75**. – P. 109.
- Condit C.M., Keller B. The glycine-rich cell wall proteins of higher plants // *Organization and Assembly of Plant and Animal Extracellular Matrix.* Eds. Adair W.S., Mecham R.P. – N.Y.: Acad. Press, 1990. – P. 119-135.
- Condit C.M., Meagher R.B. A gene encoding a novel glycine-rich structural protein of petunia // *Nature.* – 1986. – **323**. – P. 178-181.
- Cronshaw J., Esau K. Cell division in leaves of *Nicotiana*. // *Protoplasma.* – 1968. – **65**. – P. 1-24.
- Cosgrove D.J. Relaxation in a high-stress environment: the molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement // *Plant Cell.* – 1997. – **9**. – P. 1031-1041.
- Cosgrove D.J. Enzymes and other agents that enhance cell wall extensibility // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1999. – **50**. – P. 391–417.
- Cosgrove D.J. Wall Structure and Wall Loosening. A Look Backwards and Forwards // *Plant Physiol.* – 2001. – **125**. – P. 131–134
- Cosgrove D.J. Growth of the plant cell wall // *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* – 2005. – **6**. – P. 850-861.
- Cosgrove D.J., Bedinger P., Durachko D.M. Group I allergens of grass pollen as cell wall loosening agents // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 1997. – **94**. – P. 6559–6564.
- Cottle W., Kolattuduky P. Abscisic acid stimulation of suberization. Induction of enzymes and deposition of polymeric components and associated waxes in tissue culture of potato tuber // *Plant Physiol.* – 1982. – **70**. – P. 775-780.
- Crowell E., Bischoff V., Desprez Th. *Et al.* Pausing of Golgi Bodies on Microtubules Regulates Secretion of Cellulose Synthase Complexes in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* – 2009. – **21**. – P. 1141-1154.
- Cumming C.M., Rizkallah H.D., McKendrick K.A. *et al.* Biosynthesis and cell-wall deposition of a pectin-xyloglucan complex in pea // *Planta.* -2005. – **222**. – P. 546-555.
- Currier H.B. Callose substance in plant cells // *Amer. J. Bot.* – 1957. – **44**. – P. 478–488.
- Dalessandro G., Northcote D.H. Xylan synthetase activity in differentiated xylem cells of sycamore trees (*Acer pseudoplatanus*) // *Planta.* – 1981, a. – **151**. – P. 53–60.
- Dalessandro G., Northcote D.H. Increase of xylem synthetase activity during xylem differentiation of the vascular cambium of sycamore trees // *Planta.* – 1981, b. – **151**. – P. 61–67.
- Dallman T., Thomson W., Eaks I. *et al.* Expression and transport cellulose in *Avocado* mesocarp during ripening // *Protoplasma.* – 1989. – **151**. – P. 33–46.
- Darvill A.G., Albersheim P., McNeil M. *et al.* Structure and function of plant cell wall polysaccharides // *J. Cell Sci.* – 1985. – **78**. – Suppl. 2. – P. 203–217.
- Datko A.H., Maclachlan G.A. Indoleacetic acid and the synthesis of glucanes and pectic enzymes // *Plant Physiol.* – 1968. – **43**. – P. 735–742.
- Datta K., Schmidt A., Marcus A. Characterization of two soybean repetitive proline-rich proteins and a cognate cDNA from germinated axes // *Plant Cell.* – 1989. – **1**. – P. 945-952.

- Davin, L.B., Lewis, N.G. Lignin primary structures and dirigent sites // Current Opinion in Biotechnology. – 2005. – **16**. – P. 407-415.
- de Oliveira D.E., Seurinck J., Inz D. et al. Differential expression of five *Arabidopsis* genes encoding glycin-rich proteins // Plant Cell. – 1990. – **2**. – P. 427-436.
- Dean B., Kolattuduky P. Synthesis of suberin during wound-healing in Jade leaves, tomato fruit, and bean pods // Plant Physiol. – 1976. – **58**. – P. 411-416.
- Dean J.F.D., LaFayette P.R., Rugh C. et al. Laccases associated with lignifying vascular tissues. // ACS Symposium Series. – 1998. – **697**. – P. 96-108.
- Delmer D.P. The biosynthesis of cellulose and other plant cell wall polysaccharides // Recent Adv. Phytochem. – 1977. – **11**. – P. 45-77.
- Delmer D.P. Cellulose biosynthesis: exciting times for a difficult field of study // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1999. – **50**. – P. 245-276.
- Delmer D.P., Cooper G., Alexander D. et al. New approaches to the study of cellulose biosynthesis // J. Cell Sci. – 1985. – **78**. – P. 33-50.
- Demarty M., Morvan C., Thellier J. Calcium and cell wall // Plant, Cell and Environm. – 1984. – **7**. – P. 441-448.
- Demura T., Ye Z.H. Regulation of plant biomass production // Curr. Opin. Plant Biol. – 2010. – **13**. – P. 299-304.
- Derbyshire P., McCann M.C., Roberts K. Restricted cell elongation in *Arabidopsis* hypocotyls is associated with a reduced average pectin esterification level // BMC Plant Biol. – 2007. – **7**. – P. 31.
- Dhugga K.S., Barreiro R., Whitten B. et al. Guar seed mannan synthase is member of the cellulose synthase super gene family // Science. – 2004. – **16**. – P. 363-366.
- Dhugga K.S., Ray P.M. Purification of 1,3- β -D-glucan synthase activity from pea tissue: two polypeptides of 55 kDa and 70 kDa copurify with enzyme activity // Eur. J. Biochem. – 1994. – **220**, lissue 3. – P. 943-953.
- Dickstein R., Bisseling T., Reinhold V.N., Ausubel F.M. Expression of nodule-specific genes in alfalfa root nodules blocked at an early stage of development // Genes Dev. – 1988. – **2**. – P. 677-687.
- Ding B. Intercellular protein trafficking through plasmodesmata // Plant Mol. Biol. – 1998. – **38**. – P. 279-310.
- Doblin M.S., Kurek I., Jacob-Wilk D., Delmer D.P. Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes // Plant Cell Physiol. – 2002. – **43**. – P. 1407-1420.
- Doblin M.S., De Melis L., Newbigin E. Et al. Pollen tubes of *Nicotiana glauca* express two genes from different β -glucan synthase families // Plant Physiol. – 2001. – **125**. – P. 2040-2052.
- Donaldson L.A. Lignin distribution during latewood formation in *Pinus-Radiata* D Don. // Iawa Bulletin. – 1992. – **13**. – P. 381-387.
- Donaldson L.A. Mechanical constraints on lignin deposition during lignification // Wood Sci. Technol. – 1994. – **28**. – P. 111-118.
- Donaldson L.A. Lignification and lignin topochemistry – an ultrastructural view // Phytochemistry. – 2001. – **57**. – P. 859-873.
- Dong X., Hong Z., Chatterjee J. et al. Expression of callose synthase genes and its connection with *Npr1* signaling pathway during pathogen infection // Planta. – 2008. – **229**. – P. 87-98.
- Dong X., Hong Z., Sivaramakrishnan M. et al. Callose synthase (*CalS5*) is required for exine formation during microgametogenesis and for pollen viability in *Arabidopsis* // Plant J. – 2005. – **42**, Issue 3. – P. 315-328.
- Dorset D. Crystallography of waxes—an electron diffraction study of refined and natural products // J. Phys. D Appl. Phys. – 1997. – **30**. – P. 451-457.
- Dorset D. Development of lamellar structures in natural waxes—an electron diffraction investigation // J. Phys. D Appl. Phys. – 1999. – **32**. – P. 1276-1280.
- Douglas C.M., Foor F., Marrinan J.A. et al. The *Saccharomyces cerevisiae* *FKS1* (*ETG1*) gene encodes an integral membrane protein which is a subunit of 1,3- β -D-glucan synthase // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1994. – **91**. – P. 12907-12911.
- Douglas C.J., Hoffmann H., Schulz W., Hahlbrock K. Structure and elicitor or u.v.-light-stimulated expression of two 4-coumarate:CoA ligase genes in parsley // EMBO J. – 1987. – **6**. – P. 1189-1195.
- Dragota S., Riederer M. Epicuticular wax crystals of *Wollemia nobilis*: morphology and chemical composition // Ann. Bot. – 2007. – **100**. – P. 225-231.

- Dunkley T.P.J., Hester S., Shadforth I.P. et al. Mapping the *Arabidopsis* organelle proteome // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – **103**. – P.6518-6523.
- Dybos T., Gyeldira M., Dubois J., Wasseur J. Direct somatic embryogenesis in root of *Cichorium*: is callose an early marker? // Ann. Bot. – 1990. – **65**. – P. 539–545.
- Ebringerova A., Hromadkova Z., Heinze T. Hemicellulose, Polysaccharides 1: Structure, Characterization and Use. – Berlin: Springer-Verlag, 2005 – Vol. **186**. – P. 1-67.
- Edwards M.E., Dickson C.A., Chengappa S. et al. Molecular characterisation of a membrane bound galactosyltransferase of plant cell wall matrix polysaccharide biosynthesis // Plant J. – 1999. – **19**. – P. 691-697.
- Edwards G.E., Ku M.S.B. Biochemistry of C₃-C₄ intermediates /The Biochemistry of Plants. Vol. **10**. Photosynthesis. Eds. M.D. Hatch and N.K. Boardman. – San Diego, CA: Acad. Press, 1987. – P. 275–325.
- Egelund J., Petersen B.L., Motawia M.S. et al. *Arabidopsis thaliana* RGXT1 and RGXT2 encode Golgi-localized (1,3)- α -D-xylosyltransferases involved in the synthesis of pectic rhamnogalacturonan II // Plant Cell. – 2006. – **18**. – P. 2593-2607.
- Eggens T., Dallner G. Intramembraneous arrangement of the glycosylating systems in rough and smooth microsomes from rat liver // Biochem. Biophys. Acta. – 1982. – **686**. – P. 77–93.
- Ehrling J., Mattheus N., Aeschliman D.S. et al. Global transcript profiling of primary stems from *Arabidopsis thaliana* identifies candidate genes for missing links in lignin biosynthesis and transcriptional regulators of fiber differentiation // Plant J. – 2005. – **42**. – P. 618-640.
- Emons A. Plasma-membrane resets in root hairs of *Equisetum hyemale* // Planta. – 1985. – **163**. – P. 350–359.
- Emons A. Cell wall texture in root hairs of the genus *Equisetum* // Can. J. Bot. – 1986. – **64**. – P. 2201–2206.
- Emons A. Helicoidal microfibril deposition in tip growing cell and microtubule alignment during tip morphogenesis a dry cleaving and freeze–substitution study // Can. J. Bot. – 1989. – **67**. – P. 2401–2408.
- Enns L.C., Kanaoka M.M., Torii K.U. et al. Two callose synthases, GSL1 and GSL5, play an essential and redundant role in plant and pollen development and infertility // Plant Mol. Biol. – 2005. – **58**. – P. 333– 349.
- Ensikat H. J., Boese M., Mader W. et al. Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies // Chem. Phys. Lipids. – 2006. – **144**. – P. 45–59.
- Eom T.J., Meshitsuka G., Ishizu A., Nakano J. Chemical characteristics of lignin in the differentiating xylem of a hardwood. III. // Mokuzai Gakkaishi. – 1987. – **33**. – P. 716-723.
- Epstein L., Lampion, D.T.A. An intramolecular linkage involving isodityrosine in extensin // Phytochemistry. – 1984. – **23**. – P. 1241-1246.
- Erdtman H. Outstanding problems in lignin chemistry // Ind. Eng. Chem. – 1957. – **49**. – P. 1385-1386.
- Ertl H., Hallmann A., Wenzl S., Sumper M. A novel extensin that may organize extracellular matrix biogenesis in *Volvox carteri* // EMBO J. – 1992. – **11**. – P.2055-2062.
- Espelie R., Davis R., Kolattuduky P. Composition, ultrastructure and function of the cutin- and suberin-containing layers in the leaf, fruit peel juice-sac and inner seed coat of grape fruit (*Citrus paradist*) // Planta. – 1980. – **149**. – P. 498-511.
- Espelie R., Kolattuduky P. Composition of the aliphate components of suberin of the endodermal fraction from the first internode of etiolated *Sorghum* seedlings // Plant Physiol. – 1979. – **63**. – P. 433-435.
- Faik A., Bar-Peled M., DeRocher A.E. et al. Biochemical characterization and molecular cloning of an α -1,2-fucosyltransferase that catalyzes the last step of cell wall xyloglucan biosynthesis in pea // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**. – P. 15082-15089.
- Faik A., Price N.J., Raikhel N.V., Keegstra K. An *Arabidopsis* gene encoding an xylosyltransferase involved in xyloglucan biosynthesis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – **99**. – P. 7797–7802.
- Falconer M.M., Seagel R.W. Xylogenesi in tissue culture. 2. Microtubes, cell shape and secondary wall patterns // Protoplasma. – 1986. – **133**. – P. 140–148.
- Fan D.F., MacLachlan G.A. Massive synthesis of RNA and cellulose in the pea epicotyls in response to IAA, with or without concurrent cell division // Plant Physiol. – 1976. – **42**. – P. 1114–1122.
- Ferguson I.B. Calcium in plant senescence and fruit ripening // Plant, Cell and Environm. – 1984. – **7**. – 477–489.
- Farrokhhi N., Burton R.A., Brownfield L. et al. Plant cell wall biosynthesis: genetic, biochemical and functional genomics approaches to the identification of key genes // Plant Biotechnol. J. – 2006. – **4**, Issue 2. – P. 145–167.

- Faure R., Cavalier D.M., Keegstra K. Et al.* Glycosynthase – assisted synthesis of xylogluco-oligosaccharideprobes for a xylosyltransferases // *Eur. J. Org.Chem.* – 2007. – Issue 26. – P. 4313–4319.
- Fengel D., Wegener G.* Ultrastructure of the cell wall // In: *Wood Chemistry, Ultrastructure Reactions.* – Berlin, N.Y.: Walter de Gruyter, 1984. – P. 13-17.
- Fergus B.J. Goring D.A.I.* The location of guaiacyl and syringyl lignins in birch xylem tissue // *Hlzforschung.* – 1970. – **24.** – P. 113-117.
- Fincher G.B., Stone B.A.* Metabolism of noncellulosic polysaccharides // *Encyclop. of Plant Physiol.* – 1981. – **13** B. – P. 68–132.
- Fincher G.B., Stone B.A., Clarke A.E.* Arabinogalactanproteins: Structure, biosynthesis, and function // *Annu. Rev. Plant Physiol.* – 1983. – **34.** – P. 47-70.
- Flors V., Ton J., Jakab G., Mauch-Mani B.* Abscisic acid and callose: team players in defense against pathogens? // *J.Phytopathol.* – 2005. – **153**, Issue 7–8. – P. 377–383.
- Freudenberg K., Harkin J.M., Reichert M., Fukuzumi T.* Enzymes participating in lignification. Dehydrogenation of sinapin alcohol // *Chemische Berichte.* – 1958. – **91.** – P. 581-590.
- Freudenberg K., Neish A.* Constitution and Biosynthesis of Lignin. Berlin, Heidelberg, New-York: Springer-Verlag. – 1968.
- Frey-Wyssling A.* The plant cell wall // *Encyclopedia of plant anatomy.* – Berlin: Springer-Verlag, 1976. – Vol. **3.** – P. 1–294.
- Fritz S.E., Hood K.R., Hood E.E.* Localization of soluble and insoluble fractions of hydroxyproline-rich glycoproteins during maize kernel development // *J. Cell Sci.* – 1991. – **98.** – P. 545-550.
- Fry S.* *In vivo* formation of xyloglucan nonasaccharide: a possible biologically active cell wall fragments // *Planta.* – 1986. – **169.** – P. 443–453.
- Fry S.C.* Cellulases, hemicellulases and auxin-stimulated growth: a possible relationship // *Physiol Plant.* – 1989. – **75.** – P. 532–536.
- Fry S.C.* Polysaccharide-modifying enzymes in the plant cell wall // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1995. – **46.** – P. 497–520.
- Fry S.C.* Oxidative coupling of tyrosine and ferulic acid residues: intra- and extra-protoplasmic occurrence, predominance of trimers and larger products, and possible role in inter- polymeric cross-linking // *Phytochemistry Rev.* – 2004. – **3.** – P. 97–111.
- Fry S.C., Smith R.C., Renwick K.F., Martin D.J., Hodge S.K., Matthews K.J.* Xyloglucan endotransglucosylase, a new wall-loosening enzyme activity from Plants // *Biochemistry J.* – 1992. – **282.** – P. 821–828.
- Gabaldo'n C., Lo'pez-Serrano M., Pomar F. Et al.* Characterization of the last step of lignin biosynthesis in *Zinnia elegans* suspension cell cultures // *FEBS Letters.* – 2005. – **580.** – P. 4311–4316.
- Galway M.E., Hardham Gross J.* Cell wall-bound malate dehydrogenase from horseradish // *Phytochemistry.* – 1977. – **16.** – P. 319–321.
- Gardner K.H., Blackwell J.* Hydrogen bonding in native cellulose // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1974. – **343.** – P. 232–237.
- Gardiner M., Chrispeels M.J.* Involvement of the Golgi apparatus in the synthesis and secretion of hydroxyproline-rich cell wall glycoproteins // *Plant Physiol.* – 1975. – **55.** – P. 536–541.
- Genzer J., Marmur A.* Biological and synthetic self-cleaning surfaces // *MRS Bull.* – 2008 – **33.** – P. 742–746.
- Giddings T., Staehelin L.* Microtubule-mediated control of microfilament deposition: a re-examination of the hypothesis // *The Cytoskeletal Basis of Plant Growth and Form*, Ed. Lloyd C.W. – N.Y.: Acad. Press, 1991. – P. 85-99.
- Giddings T.H. Jr., Brower D.L., Staehelin L.A.* Visualization of particle complexes in the plasmamembrane of *Micrasterias denticulata* associated with the formation of cellulose fibrils in primary and secondary cell walls // *J. Cell Biol.* – 1980. – **84.** – P.327–339.
- Gidley M.J., Morris E.R., Murray E.L. et al.* Evidence for two mechanisms of interchain associated in calcium pectate gels // *Internat. J. Biol. Macromol.* – 1980. – **2.** – P. 332–334.
- Gilkes N.R., Hall M.C.* The hormonal control of cell wall turnover in *Pisum sativum* // *New Phytol.* – 1977. – **78.** – P. 1–15.

- Gillmor C.S., Poindexter P., Lorieau J. et al. The α -glucosidase I encoded by the KNOF gene is required for cellulose biosynthesis // J. Cell Biol. 2002. – **156**. – P. 1003–1013.
- Giullemain F., Guillon F., Bonnini E. et al. Distribution of pectic epitopes in cell walls of the sugar beet root // Planta. – 2005. – **205**. – P. 355–371.
- Gleeson P.A., Stone B.A., Fincher G.B. Cloning the cDNA for the arabinogalactan-protein from *Lolium multiflorum* (ryegrass) // AGP News. – 1985. – **5**. – P. 30–36.
- Glumoff T., Harvey P.J., Molinari S. et al. Lignin peroxidase from *Phanerochaete hrysosporium*: Molecular and kinetic characterization of isozymes // Eur. J. Biochem. – 1990. – **187**. – P. 515–520.
- Goicoechea M., Lacombe E., Legay S. et al. EgMYB2, a new transcriptional activator from *Eucalyptus* xylem, regulates secondary cell wall formation and lignin biosynthesis // Plant J. – 2005. – **43**. – P. 553–567.
- Go´mez Ros L.V., Gabaldó n C., Pomar F. et al. Structural motifs of syringyl peroxidases predate not only the gymnosperm-angiosperm divergence but also the radiation of tracheophytes // New Phytologist – 2007. – **173**, 63–78.
- Gomez J., Benchech-Martínez D., Stiefel V. et al. A gene induced by the plant hormone abscisic acid in response to water stress encodes a glycine-rich protein // Nature. – 1988. – **334**. – P. 262–264.
- Gorb E., Haas K., Henrich A. et al. Composite structure of the crystalline epicuticular wax layer of the slippery zone in the pitchers of the carnivorous plant *Nepenthes alata* and its effect on the insect attachment // J. Exp. Biol. – 2005. – **208**. – P. 4651–4662.
- Graca J. Hydroxycinnamates in suberin formation // Phytochem. Rev. – 2009. doi 10.1007/s11101-009-9138-4.
- Graca J., Santos S. Suberin: a biopolyester of plants' skin // Macromol. Biosci. – 2007. – **7**. – P. 128–135.
- Graca J., Pereira H. Suberin structure in potato periderm: glycerol, long-chain monomers, and glyceryl and feruloyl dimers // J. Agric. Food. Chem. – 2000. – **48**. – P. 5476–5483.
- Grammatikopoulos G., Maneta Y. Direct absorption of water by hairy leaves of *Phlomis fruticosa* and its contribution to drought avoidance // Can. J. Bot. – 1994. – **72**. – P. 1805–1811.
- Grant G.T., Morris E.R., Rees D.A. et al. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the «egg-box» model // FEBS Lett. – 1973. – **32**. – P. 195–198.
- Griffing L.R., Mersey B.G., Fowke L. Cell-fractionation analysis of glucan synthase I and II distribution and polysaccharide secretion in soybean protoplast. Evidence for the involvement of coated vesicles in wall biogenesis // Planta. – 1986. – **167**. – P. 175–182.
- Grimson M.J., Haigler C.H., Blanton R.L. Cellulose microfibrils, cell motility, and plasma membrane protein organization change in parallel during culmination in *Dictyostelium discoideum* // J. CellSci. – 1996. – **109**. – P. 3079–3087.
- Grisebach H., Hahlbrock K. Enzymology and regulation of flavonoid and lignin biosynthesis in plants and plant cell suspension cultures // Recent Adv. Phytochemistry. – 1974. – **8**. – P. 21–52.
- Grünwald C., Ruel K., Kim Y.S., Schmitt U. On the cytochemistry of cell wall formation in poplar trees // Plant Biology (Stuttgart, Germany). – 2002. – **4**. – P. 13–21.
- Gu X., Bar-Peled M. The biosynthesis of UDP-galacturonic acid in plants. Functional cloning and characterization on Arabidopsis UDP-D-glucuronic acid 4-epimerase // Plant Physiol. – 2004. – **136**. – P. 4256–4264.
- Gu, X., Verma D.P.S. Dynamics of phragmoplastin in living cells during cell plate formation and uncoupling of cell elongation from the plane of cell division // Plant Cell. – 1997. – **9**. – P. 157–169.
- Guan S.-Y., Mlynar J., Sarkanen S. Dehydrogenative polymerization of coniferyl alcohol on macromolecular lignin templates // Phytochemistry. – 1997. – **45**. – P. 911–918.
- Guerriero G., Fugelstad J., Bulone V. What do we really know about cellulose biosynthesis in higher plants? // J. Integr. Plant Biol. – 2010. – **52**. – P. 161–175.
- Gunawardena A.Y., Pearce D., Jackson M.B. et al. Rapid changes in cell wall pectic polysaccharides are closely associated with early stages of aerenchyma formation, a spatially localized form of programmed cell death in roots of maize (*Zea mays* L.) promoted by ethylene // Plant and Cell Envir. – 2001. – **24**. – P. 1369–1375.
- Gunning B. E. S. The cytokinetic apparatus: its development and spatial regulation // In: The Cytoskeleton In Plant Growth and Development. Ed. C. W. Lloyd. Acad. Press, London. 1982. – P. 229–292.

- Gunningham M.E., Hall J.L. A quantitative stereological analysis of the effect of indolacetic acid on the dictyosomes in pea stem epidermal cells // *Protoplasma*. – 1985. – **125**. – P. 230–234.
- Guo D.J., Chen F., Inoue K. et al. Downregulation of caffeic acid 3-O-methyltransferase and caffeoyl CoA 3-O-methyltransferase in transgenic alfalfa: Impacts on lignin structure and implications for the biosynthesis of G and S lignin // *Plant Cell*. – 2001. – **13**. – P. 73-88.
- Guseman J.M., Lee J.S., Bogenschutz N.L. et al. Dysregulation of cell-to-cell connectivity and stomatal patterning by loss-of-function mutation in *Arabidopsis* CHORUS (*GLUCANSYNTHASE-LIKE8*) // *Development*. – 2010. – **137**. – P.1731–1741.
- Ha M.A., Apperley D.C., Evans B.W. et al. Fine structure in cellulose microfibrils: NMR evidence from onion and quince // *Plant J*. – 1998. – **16**. – P. 183–190.
- Ha M.A., Apperley D.C., Jarvis M. Molecular rigidity in dry and hydrated onion cell walls // *Plant Physiol*. – 1997. – **115**. – P. 593–598.
- Hager A. Role of the plasma membrane H⁺-ATPase in auxin-induced elongation growth: Historical and new aspects // *J. Plant Res*. – 2003. – **116**. – P. 483-505.
- Hager A., Menzel H., Krauss A. Versuche und Hypothese zur Primärwirkung des Auxins beim Streckungswachstum // *Planta*. – 1971. – **100**. – P. 47-75.
- Haigler C.H., Ivanova-Datcheva M., Hogan P.S., et al. Carbon partitioning to cellulose synthesis // *Plant Mol. Biol*. – 2001. – **47**. – P. 29–51.
- Hamann T., Osborne E., Youngs H.L. et al. Global expression analysis of *CESA* and *CSL* genes in *Arabidopsis* // *Cellulose*. – 2004. – **11**. – P. 279–286.
- Harkin J.M., Obst J.R. Lignification in trees. Indication of exclusive peroxidase participation // *Science*. – 1973. – **180**. – P. 296-298.
- Hasenstein K.H., Evans M.L. Calcium dependence of rapid auxin stimulation on the ultrastructure of statocytes and the graviresponse of root // *Planta*. – 1980. – **150**. – P. 338–346.
- Hatton D., Sablowski R., Yung M-H. et al. Two classes of *cis* sequences contribute to tissuespecific expression of a *PAL2* promoter in transgenic tobacco // *Plant J*. – 1995. – **7**. – P. 859–876.
- Hauffe K.D., Lee S.P., Subramaniam R., Douglas C.J. Combinatorial interactions between positive and negative *cis*-acting elements control spatial patterns of *4CL-1* expression in transgenic tobacco // *Plant J*. – 1993. – **4**. – P. 235–253.
- Hauke V., Schreiber L. Ontogenetic and seasonal development of wax composition and cuticular transpiration of ivy (*Hedera helix* L.) sun and shade leaves // *Planta*. – 1998. – **207**. – P. 63-75.,
- Heidi Timonen. Lignin characteristics and ecological interactions of PtCOMP-modified silver birch // *Acad. Diss. Univers of OULU, Finland*. – 2007. – P. 1- 34.
- Helsper J.P., Veerkamp J.H., Sassen M.M. β -glucan synthase activity in Golgi vesicles of *Petunia* hybrid // *Planta*. – 1977. – **133**. – P. 303–308.
- Henrissat B., Coutinho P.M., Davies G.J. A census of carbohydrate-active enzymes in the genome of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Mol. Biol*. – 2001. – **47**. – P. 55–72.
- Hepler P. K., Bonsignore C. Caffeine inhibition of cytokinesis: ultrastructure of cell plate formation/degradation // *Protoplasma*. – 1990. – **157**. – P. 182-192.
- Hepler P. K., Newcomb E. Fine structure of cell plate formation in the apical meristem of *Phaseolus* roots // *J. Ultrastruc. Res*. – 1967. – **19**. – P. 498-513.
- Hepler P.K., Valster A.H., Molchan T., Vos J.W. Roles for kinesin and myosin during cytokinesis // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biol. Sci*. – 2002. – **357**. – P. 761–766.
- Hepler P.K., Wayne R.O. Calcium and plant development // *Ann. Rev. Plant Physiol*. – 1985. – **36**. – P. 397-439.
- Herman E.M., Lamb C.J. Arabinogalactan-rich glycoproteins are localized on the cell surface and in intracellular multivesicular bodies // *Plant Physiol*. – 1992. – **98**. – P. 264-272.
- Herth I.B., Seagull R.W. Orientated cellulose fibrils and the cytoskeleton: a critical comparison of models // *The cytoskeleton in the plant growth and development*. San Diego, San Francisco, San Paulo Sudmy, Tokyo, Toronto: Acad. Press, 1982. – P. 163–182.

- Herth W. Arrays of plasma membrane «rosettes» in cellulose microfibril formation of *Spirogyra* // *Planta*. – 1983. – **159**. – P. 347–356.
- Hiraga S., Sasaki K., Ito H. et al. A large family of class III plant peroxidases // *Plant Cell Physiol.* – 2001. – **42** (5). – P. 462–468.
- Hoad S., Grace J., Jeffree C. Humidity response of cuticular conductance of beech (*Fagus sylvatica* L.) leaf discs maintained at high relative water content // *J. Exp. Bot.* – 1997. – **48**. – P. 1969–1975.
- Hofmann A., Delmer D.P., Wlodawer A. The crystal structure of annexin Gh1 from *Gossypium hirsutum* reveals an unusual S3 cluster // *Eur. J. Biochem.* – 2003. – **270**. – P. 2557–2564.
- Hogetsu T. Orientation of wall microfibril deposition in root cell of *Pisum sativum* L. var Alaska // *Plant Cell Physiol.* – 1986. – **27**. – P. 947–951.
- Holland N., Holland D., Helentjaris T. et al. A comparative analysis of the plant cellulose synthase (*CesA*) gene family // *Plant Physiol.* – 2000. – **123**. – P. 1313–1324.
- Holloway P.J. Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview / *The plant cuticle*. Eds. D.E. Cutler, K.L. Alvin K.L. and C.E. Price. – London: Acad. Press, 1982, **a**. – P. 1–32.
- Holloway P.J. The chemical composition of plant cutins / *The plant cuticle*. Eds. D.E. Cutler, K.L. Alvin K.L. and C.E. Price. – London: Acad. Press, 1982, **b**. – P. 45–86.
- Holloway P. J. Plant cuticles: physicochemical characteristics and biosynthesis // In: *Air pollutants and the leaf cuticle*. Eds. Percy K.E., Cape C.N., Jagels R., Simpson C.J. – Heidelberg, Germany: Springer, 1994. – P. 1–13.
- Hong Z., Delauney A.J., Verma D. A cell plate specific callose synthase and its interaction with phragmoplastin // *Plant Cell*. – 2001, **a**. – **13**. – P. 755–768.
- Hong Z., Zhang Z., Olson J.M., Verma D.P.S. A novel UDPglucose transferase is part of the callose synthase complex and interacts with phragmoplastin at the forming cell plate // *Plant Cell*. – 2001, **b**. – **13**. – P. 769–779.
- Hose E., Clarkson D.T., Steudle E. et al. 2001. The exodermis: a variable apoplastic barrier // *J. Exp. Bot.* – 2001. – **52** – P. 2245–2264.
- Hayashi T. Xyloglucan in the primary cell wall // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1989. – **40**. – P. 139–168
- Hu W.J., Harding S.A., Lung J. et al. Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees // *Nature Biotech.* – 1999. – **17**. – P. 808–812.
- Huang L., Chen X.Y., Rim Y. et al. Arabidopsis glucansynthase-like 10 functions in male gametogenesis // *J. Plant Physiol.* – 2009. – **166**. – P. 344–352.
- Iiyama K., Lam T.B.T., Stone B.A. Phenolic acid bridges between polysaccharides and lignin in wheat internodes // *Phytochemistry*. – 1990. – **29**. – P. 733–737.
- Iraki N.M., Bressan R.A., Hasegawa P.M., Carpita N. Alteration of physical and chemical structure of the primary cell wall of growth-limited plant cells adapted to osmotic stress // *Plant Physiol.* – 1989. – **91**. – P. 39–47.
- Ishii T., Matsunaga T. Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan // *Phytochemistry*. – 2001. – **57**. – P. 969–974.
- Ishizawa K., Esachi Y. Osmoregulation between IAA and ethylene // *Plant Cell Physiol.* – 1984. – **25**. – P. 495–504.
- Israelachvili J.N. *Intracellular and surface forces*. – London: Acad. Press., 1999.
- Itoh T., Ogawa T. Molecular architecture of the cell wall of poplar cells in suspension culture, as revealed by rapid-freezing and deep-etching techniques // *Plant Cell Physiol.* – 1993. – **34**. – P. 1187–1196.
- Jackson C.L., Dreaden T., Theobald L.K. et al. Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells correlation of apoptotic function with pectin structure // *Glycobiology*. – 2007. – **17**. – P. 805–819.
- Jackson P.A.P., Galinha C.I.R., Pereira C.S. et al. Rapid deposition of extensin during the elicitation of grapevine callus cultures specifically catalysed by a 40-kilodalton peroxydase // *Plant Physiol.* – 2001. – **127**. – P. 1065–1076.
- Jacob S.R., Northcote D.H. *In vitro* glucan synthesis by membranes of celery petioles: the role of the membrane in determining the type of linkage formed // *J. Cell Sci.* – 1985. – Suppl **2**. – P.1–11.
- Jacobs A.K., Lipka V., Burton R.A. et al. An *Arabidopsis* callose synthase, *GSL5*, is required for wound and papillary callose formation // *Plant Cell*. – 2003. – **15**. – P. 2503–2513.

- Jarvis M.C. Structure and properties of pectin gels in plant cell walls // *Plant, Cell Environ.* – 1984. – 7. – P. 153–164.
- Jarvis M.C. Interconversion of the α and β crystalline forms of cellulose by bending // *Carb. Res.* – 2000. – **325**. – P. 150–154.
- Jarvis M.C., Llogan A.S., Duncan H.J. Tensile characteristics of collenchymas cell wall at different calcium contents // *Physiol. Plant.* – 1984. – **61**. – P. 81–86
- Jeffree C. E. Structure and ontogeny of plant cuticles // In: *Plant cuticles – an integrated functional approach*. Ed. Kerstein G. – Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1996. – P. 33-75.
- Jeffree C. E., Baker E. A., Holloway P. J. Ultrastructure and recrystallization of plant epicuticular waxes // *New Phytol.* – 1975. – **75**. – P. 539–549.
- Jetter R., Kunst L., Samuels A. L. Composition of plant cuticular waxes // In: *Biology of the plant cuticle*. Eds. M. Riederer M., Müller C. Annual plant review. – Oxford, UK: Blackwell. –2006. – **23**. – P. 145-175.
- Jetter R., SchaEffer S. Chemical composition of the *Prunus laurocerasus* leaf surface. Dynamic changes of the epicuticular wax film during leaf development // *Plant Physiol.* – 2001. – **126**. – P. 1725–1737.
- Jones M.G., Payne J. Cytokinesis in *Impatiens balsamina* and the effect of caffeine // *Cytobios.* – 1978. – **20**. – P. 79–91.
- Jonson K.D., Daniels D., Dowler M.J., Rayle D.L. Activation of *Avena* coleoptiles cell wall glycosidases by hydrogen ions and auxin // *Plant Physiol.* – 1974. – **53**. – P. 224–228.
- Jose-Estanyol M., Ruiz-Avila L., Puigdomhnech P. A maize embryo-specific gene encodes a proline-rich and hydrophobic protein // *Plant Cell.* – 1992. – **4**. – P. 413-423.
- Joseleau J-P., Ruel K. Study of lignification by noninvasive techniques in growing maize internodes. An investigation by Fourier transforms Infrared, CP/MAS ^{13}C NMR spectroscopy and immunocytochemical transmission electron microscopy // *Plant Physiol.* – 1997. – **114**. – P. 1123-1133.
- Josh C.P., Bhandari S., Ranjan P. et al. Genomics of cellulose biosynthesis in poplars // *New Phytol.* – 2004. – **164**. – P. 53–61.
- Kappler R., Kristen U. Exogenous cytokinins cause cell separation and cell expansion in the root tip cortex of *Zea mays* // *Bot. Gaz.* – 1986. – **147**. – P. 247–251
- Kaliff M., Staal J., Myrena's M., Dixelius C. ABA is required for *Lepto sphaeria* maculans resistance via ABI1 and ABI4 dependent signalling // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2007. – **20** – P. 335–345.
- Kamat U., Garg R., Sharma C.B. Purification to homogeneity and characterization of a 1,3- β -glucan (callose) synthase from germinating *Arachis hypogaea* cotyledons // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1992. – **298**. – P. 731–739.
- Ka'rkö'nen A., Koutaniemi S., Mustonen M. et al. Lignification related enzymes in *Picea abies* suspension cultures // *Physiol. Plantarum.* – 2002. – **114**. – P. 343–353.
- Ka'rkö'nen A., Fry S.C. Effect of ascorbate and its oxidation products on H_2O_2 production in cell-suspension cultures of *Picea abies* and in the absence of cells // *J. Exp. Bot.* – 2006. – **57**. – P. 1633–1644.
- Kauss H. Callose biosynthesis as a Ca^{2+} -regulated process and possible relations in the induction of other metabolic changes // *J. Cell Sci.* – 1985. – **79**, Suppl 3. – P. 89–103.
- Kauss H., Jeblick W. Influence of free fatty acids, lysophosphatidylcholine, platelet-activating factor, acylcarnitine, and echinocandin B on 1,3- β -D-glucansynthase and callose synthesis // *Plant Physiol.* – 1986. – **80**. – P. 7–13.
- Kauss H., Jeblick W. Induced Ca^{2+} uptake and callose synthesis in suspension-cultured cells of *Catharanthus roseus* are decreased by the protein phosphatase inhibitor okadaic acid // *Physiol. Plant.* – 1991. – **81**, Issue 3. – P. 309–312.
- Kawasaki S. Extensin secreted into the culture medium of tobacco cells. 11. Extensin subfamilies of similar composition // *Plant Cell Physiol.* –1991. – **32**. – P. 721-728.
- Kawasaki S. Synthesis of arabimnose-containing cell wall precursors in suspension-cultured tobacco cells. IV. Differential subfractionation and comparison of the acidic precursors // *Plant Cell Physiol.* – 1987. – **28**. – P. 925–935.
- Kawasaki S., Sato S. Isolation of the Golgi apparatus from suspension cultured tobacco cells and preliminary observation on the intracellular transport of extension-precursor // *Bot. Mag.* – 1979. – **92**. – P. 305–314.

- Keegstra K., Talmadge K.W., Bauer W.D., Albersheim P. The structure on plant cell walls. III. A model of the walls on suspension-cultured sycamore cells based on the inter connections of the macromolecular components // *Plant Physiol.* -1973. – **51**. – P. 188–196.
- Keller B., Sauer N., Lamb C.J. Glycine-rich cell wall proteins in bean: Gene structure and association of the protein with the vascular system // *EMBO J.* – 1988. – **7**. – P. 3625–3633.
- Keller B., Templeton M.D., Lamb C.J. Specific localization of a plant cell wall glycine-rich protein in protoxylem cells of the vascular system // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1989. – **86**. – P. 1529–1533.
- Kempema L.A., Cui X., Holzer F.M., Walling L.L. *Arabidopsis* transcriptome changes in response to phloem-feeding silver leaf whitefly nymphs. Similarities and distinctions in responses to aphids // *Plant Physiol.* – 2007. – **143**. – P. 849–865.
- Kennedy C.J., Cameron G.J., Sa turcova A. et al. Microfibril diameter in celery collenchyma cellulose: x-ray scattering and NMR evidence // *Cellulose.* – 2007. – **14**. – P. 235–246.
- Kerstiens G. Cuticular water permeability and its physiological significance // *J. Exp. Bot.* – 1996. – **47**. – P. 1813–1832.
- Kerstiens G. Water transport in plant cuticles: an update // *J. Exp. Bot.* – 2006. – **57**. – P. 2493–2499.
- Kieliszewski M., de Zacks R., Leykam J., Lamport D. A repetitive proline-rich protein from the gymnosperm Douglasfir is a hydroxyproline-rich glycoprotein // *Plant Physiol.* – 1992. – **98**. – P.919–926.
- Kieliszewski M., Lamport D.T.A. Purification and partial characterization of a hydroxyproline-rich glycoprotein in a graminaceous monocot, *Zea mays* // *Plant Physiol.* – 1987. – **85**. – P. 823–827.
- Kieliszewski M., Lamport D.T.A. Tying the knots in the extensin network // *Self-Assembling Architecture*. Ed. Varner J.E. – N.Y.: Alan R. Liss, 1988. – P. 61–76.
- Kim Y.S., Meshitsuka G., Ishizu A. Structural heterogeneity of lignin. Contribution of carbon-carbon bonds // *Mokuzai Gakkaishi.* – 1994. – **40**. – P. 407–413.
- Kim Y.H., Kim C.Y., Song W.K. et al. Overexpression of sweetpotato swpa4 peroxidase results in increased hydrogen peroxide production and enhances stress tolerance in tobacco // *Planta.* – 2008. – **227**. – P. 867–881.
- Kimura S., Laosinchai W., Itoh T. et al. Immunogold labeling of rosette terminal cellulose-synthesizing complexes in the vascular plant *Vigna angularis* // *Plant Cell.* – 1999. – **11**. – P. 2075–2085.
- Knox J.P., Linstead P.J., Peart J. et al. Developmentally regulated epitopes of cell surface arabinogalactan proteins and their relation to root tissue pattern formation // *Plant J.* – 1991. – **1**. – P. 317–326.
- Knox J.P., Linstead P., King J. et al. Pectin esterification is spatially regulated both within cell walls and between developing tissues of root Apices // *Planta.* – 1990. – **181**. – P. 512–521.
- Ko J.H., Kim W.C., Han K.H. Ectopic expression of MYB46 identifies transcriptional regulatory genes involved in secondary wall biosynthesis in *Arabidopsis* // *Plant J.* – 2009. – **60**. – P. 649–665.
- Koch K., Barthlott W. Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials // *Phil. Trans. R. Soc. A.* – 2009. – **367**. – P.1487–1509.
- Koch K., Bhushan B., Barthlott W. Multifunctional surface structures of plants: an inspiration for biomimetics: invited review // *Prog. Mater. Sci.* – 2009. – **54**. – P. 137–178.
- Koch K., Bhushan B., Barthlott W. Diversity of structure, morphology and wetting on plant surfaces // *Soft Matter.* – 2008. – **4**. – P. 1943–1963.
- Koh E.J., Zhou L., Williams D.S. et al. Callose deposition in the phloem plasmodesmata and inhibition of phloem transport in citrus leaves infected with «*Candidatus Liberibacter asiaticus*» // *Protoplasma.* – 2012. – **249**. – P. 687–697.
- Kolattukudy P. Cutin, suberin and waxes // *The Biochemistry of plants. Lipids: structure and function*. Ed. Stumpf P.K. – N.Y.: Acad. Press, 1980. – Vol. **4**. – P. 571–645.
- Kolattukudy P., Espelie R., Soliday C. Hydrophobic layers attached to cell walls: cutin, suberin and associated waxes // *Plant Physiol. New Ser.* – 1981. – **13 B**. – P. 225–234.
- Kolattukudy P. Biochemistry and function of cutin and suberin // *Can. J. Bot.* – 1984. – **62**. – P. 2918–2933
- Kolattukudy P.E. Biosynthesis pathways of cutin and waxes and their sensitivity to environmental stresses// In: *Plant Cuticles*. Ed. G. Kerstiens. BIOS. Scientific Publishers, Oxford, 1996. – P. 83–108.
- Kolattukudy P. E. Polyesters in higher plants // *Advances in biochemical engineering. Biotechnology*. Ed. Scheper T. – Berlin, Germany: Springer, 2001. – P. 4–49.

- Koyama M., Helbert W., Imai T. et al. Parallel-up structure evidences the molecular directionality during biosynthesis of bacterial cellulose // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – **94**. – P. 9091-9095.
- Krabel D., Eschrich W., Wirth S., Wolf G. Callase-(1,3- β -D-glucanase) activity during spring reactivation in deciduous trees // Plant Sci. – 1993. – **93**, Issue 1. – P. 19–23.
- Kristen U. Ausscheidung von protein und glycoprotein durch pflanzliche druzen // Ber. Deutsch. Bot. Ges. – 1980. – **93**. – S. 587–594.
- Kristen U. The validity of the endomembrane concept in the light of polysaccharide and protein secretion in higher plants // Bul. Soc. Bot. Fr. – 1982. – **129**. – P. 15–21.
- Kubo M., Udagawa M., Nishikubo N. et al. Transcription switches for protoxylem and metaxylem vessel formation // Genes Dev. – 2005. – **19**. – P. 1855–1860.
- Kukkola E.M., Koutaniemi S., Poellaenen E. et al. The dibenzodioxocin lignin substructure is abundant in the inner part of the secondary wall in Norway spruce and silver birch xylem // Planta. – 2004. – **218**. – P. 497–500.
- Kukkola E.M., Koutaniemi S., Gustafsson M. Et al. Localization of dibenzodioxocin substructures in lignifying Norway spruce xylem by transmission electron microscopy–immunogold labeling // Planta. – 2003. – **217**. – P. 229–237.
- Kunst L., Samuels A. L. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax // Prog. Lip. Res.–2003. – **42**. – P. 51–80.
- Kusnierczyk A., Winge P., Jørstad T.S. et al. Towards global understanding of plant defence against aphids—timing and dynamics of early *Arabidopsis* defence responses to cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) attack // Plant Cell Environ. – 2008. – **31**, Issue 8. – P. 1097–1115.
- Labrador E., Rodrigues D., Nicolas G. Changes in cell wall composition of embryonic axes of germinating *Cicer arietinum* L. seeds. Effect of abscisic acid and temperature // Plant Sci. – 1987. – **48**. – P. 23-30.
- Labvitch J.M., Ray P.M. Relationship between promotion of xyloglucan metabolism and induction of elongation by IAA // Plant physiol. – 1974. – **54**. – P. 499–502
- Lai-Kee-Him J., Chanzy H., Muller M. et al. *In vitro* versus *in vivo* cellulose microfibrils from plant primary wall synthases: structural differences // J. Biol. Chem. – 2002. – **277**. – P. 36931–36939.
- Leach J.E., Cantrell M.A., Sequeira L. A hydroxyprolinerich bacterial agglutinin from potato: Extraction, purification, and characterization // Plant Physiol. – 1982. – **70**. – P. 1353-1358.
- Ledbetter M, Porter K. A microtubule in plant cell fine structure // J. Cell Biol. – 1963. – **19**. – P. 239–250.
- Lee D., Ellard M., Wanner L.A. et al. The *Arabidopsis thaliana* 4-coumarate: CoA ligase (4CL) gene: stress and developmentally regulated expression and nucleotide sequence of its cDNA // Plant Mol. Biol. – 1995. – **28**. – P. 871–884.
- Legay S., Sivadon P., Blervacq A.S. et al. EgMYB1, an R2R3 MYB transcription factor from eucalyptus negatively regulates secondary cell wall formation in *Arabidopsis* and poplar // New Phytol. – 2010. – **188**. – P. 774–786.
- Lei M., Wu R. A novel glycine-rich cell wall protein gene in rice // Plant Mol. Biol. – 1991. – **16**. – P.187-198.
- Leisola M., Pastinen O., Axe D.D. Lignin—Designed // Bio-complexity.org. – 2012. – Issue 3. – P. 1-11.
- Lewis N.G., Davin, L.B., Sarkanen, S. The nature and function of lignins // Comprehensive Natural Products Chemistry. – 1999. – **3**. – P. 617-745.
- Leyva A., Liang X., Pintor-Toro J.A. et al. *cis*-Element combinations determine phenylalanine ammonialyase gene tissue-specific expression patterns // Plant Cell. –1992. – **4**. – P. 263–271.
- Li H., Bacic A., Read S.M. Activation of pollen tube callosesynthase by detergents: evidence for different mechanisms of action // Plant Physiol. – 1997. – **114**. – P. 1255–1265.
- Li X.-B., Kieliszewski M., Lamport D.T.A. A chenopod extensin lacks repetitive tetrahydroxyproline blocks // Plant Physiol. – 1990. – **92**. – P. 327-333.
- Li L., Brown R.M, Jr. β -Glucan synthesis in the cotton fiber. II. Regulation and kinetic properties of β -glucan synthases // Plant Physiol. – 1993. – **101**. – P. 1143–1148.
- Lienart J., Barnoud F. β -D-glucan–hydrolase activities in pure cell wall enriched fractions from *Valerianella olitoria* cells // Planta. – 1985. – **165**. – P. 68–75.

- Liepman A., Wilkerson C., Keegstra K. Expression of cellulose synthase-like (Csl) genes in insect cells reveals that CslA family members encode mannan synthases // Proc. Nat. Aca. Sci. – 2005. – **102**. – P. 2221-2226.
- Lindstrom J.T., Vodkin L.O. A soybean cell wall protein is affected by seed color genotype // Plant Cell. – 1991. – **3**. – P. 561-571.
- Linthorst H.J.M., van Loon L.C., Memelink J., Boi J.F. Characterization of cDNA clones for a virus-inducible, glycine-rich protein from petunia // Plant, Mol. Biol. – 1990. – **15**. – P. 521-523.
- Liszskay A., Kenk B., Schopfer P. Evidence for the involvement of cell wall peroxidase in the generation of hydroxyl radicals mediating extension growth // Planta. – 2003. – **217**. – P. 658-667.
- Liu P., Qi M., Xue X., Ren H. Dynamics and functions of the actin cytoskeleton during the plant cell cycle // Chinese Science Bull. – 2011. – **56**. – P. 3504-3510.
- Lois R., Dietrich A., Hahlbrock K., Schulz W. A phenylalanine ammonia-lyase gene from parsley: structure, regulation, and identification of elicitor and light responsive cis-acting elements // EMBO J. – 1989. – **8**. – P. 1641-1648.
- Lloyd C.W. Helical microtubular arrays in onion root hairs // Nature. – 1983. – **305**. – P. 311-313.
- Loneragan T.A. Regulation of cell shape in *Euglena gracilis*. Involvement of the biological clock respiration, photosynthesis and cytoskeleton // Plant Physiol. – 1983. – **71**. – P.719-730.
- Loneragan T.A. Regulation of cell shape in *Euglena gracilis*. II. The effects of altered extra and intracellular Ca²⁺ concentration and the effect of calmodulin antagonist // J. Cell Sci. – 1984. – **71**, Suppl. 1. – P. 37-50.
- Lorences E.P., Zarra J. Auxin-induced growth in hypocotyls segments of *Pinus pinaster* Aiton. Change in molecular weight distribution of hemicellulosic polysaccharides // J. Exp. Bot. – 1987. – **38**. – P. 960-967.
- Lukowitz W., Nickle T.C., Meinke D.W. et al. *Arabidopsis* *cyt1* mutants are deficient in a mannose-1-phosphate guanylyltransferase and point to a requirement of N-linked glycosylation for cellulose biosynthesis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – **98**. – P. 2262-2267.
- Luna E., Pastor V., Robert J. Et al. Callose deposition: a multi faceted plant defense response // Mol. Plant Microbe Interact. – 2011. – **24**. – P. 183-193.
- MacKinnon I.M., Jardine W.G., O'Kennedy N. et al. Pectic methyl and nonmethyl esters in potato cell walls // J. Agric. Food Chem. – 2002. – **50**. – P. 342-346.
- Maclachlan G. Cellulose metabolism and cell growth // Plant growth regulation. Berlin, Heidelberg, N.Y.: Springer press, 1977. – P. 13-20.
- Madson M., Dunand C., Li X.L. et al. The MUR3 gene of *Arabidopsis* encodes a xyloglucan galactosyltransferase that is evolutionarily related to animal exostosins // Plant Cell. – 2003. – **15**. – P. 1662-1670.
- Malcos J.L., Cyr R.J. An ungrouped plant kinesin accumulates at the preprophase band in a cell cycle-dependent manner // Cytoskeleton. – 2011. – **68**. – P. 247-258.
- Marchan H.J., Hines E.R. The role microtubules and cell wall deposition in elongation of regenerating protoplast of *Mongeaotia* // Planta. – 1979. – **146**. – P. 41-48.
- Marchessault R.H., Sundraragen P.R. Bibliography of crystal structure of polysaccharides. 1967- 1974 // Adv. Carbohydr. Chem. Bioche. – 1977. – **33**. – P. 387-404.
- Marcus A., Greenberg J., Averyhart-Fullard V. Repetitive proline-rich proteins in the extracellular matrix of the plant cell // Physiol. Plant. – 1991. – **81**. – P. 273-279.
- Marga F., Gallo A., Hasenstein K.H. et al. Cell wall component affect mechanical properties: studies with thistle flowers // Plant Physiol. Biochem. – 2003. – **41**. – P. 792-797.
- Marrow D.L., Lucas W.J. (1→3)-β-D-glucan synthase from sugar beet // Plant Physiol. – 1986. – **81**. – P. 171-176.
- Marjamaa K., Hilde' n K., Kukkola E., et al. Cloning, characterization and localization of three novel class III peroxidases in lignifying xylem of Norway spruce (*Picea abies*) // Plant Mol. Biol. – 2006, a. – **61**. – P. 719-732.
- Marjamaa K., Kukkola E., Lundell T. et al. Monolignol oxidation by xylem peroxidase isoforms of Norway spruce (*Picea abies*) and silver birch (*Betula pendula*) // Tree Physiology. – 2006, b. – **26**. – P. 605-611.
- Marjamaa K., Kukkola E., Kurt V. Fagerstedt K. The role of xylem class III peroxidases in lignification // J. Exp. Bot. – 2009. – **60**, No. 2. – P. 367-376.

- Masuda Y. Wall extensibility in relation to auxin effects // Plant Growth Regulation. Proc. 9th Internat. Conf. Lausanne. 1976. Berlin, Heidelberg: Springer, 1977. – P. 21–26.
- Masuda Y. Cell wall modification during auxin-induced cell extension in monocotyledonous and dicotyledonous plants // Biol. Plant. (Praha). – 1985. – **2**. – P. 119–124.
- Matsumoto I., Jimbo A., Mizuno Y. et al. Purification and characterization of potato lectin // J. Biol. Chem. – 1983. – **258**. – P. 2866–2891.
- Matsunaga T., Ishii T., Matsumoto S. et al. Occurrence of the primary cell wall polysaccharide rhamnogalacturonan II in pteridophytes, lycophytes, and bryophytes. Implication for the evolution of vascular plants // Plant Physiol. – 2004. – **134**. – P. 339–351.
- McCann M.C., Roberts K. Architecture of the primary cell wall. In The Cytoskeletal Basis of Plant Growth and Form. Ed. C.W. Lloyd, Acad. Press, London, 1991. – P. 109–129.
- McCann M.C., Roberts K. Changes in cell wall architecture during cell elongation // J. Exp. Bot. – 1994. – **45**. – P. 1683–1691.
- McCarthy R.L., Zhong R., Fowler S. et al. The poplar MYB transcription factors, PtrMYB3 and PtrMYB20, are involved in the regulation of secondary wall biosynthesis // Plant Cell Physiol. – 2010. – **51**. – P. 1084–1090.
- McCann M.C., Stacey N.J., Wilson R., Roberts K. Orientation of macromolecules in the walls of elongating carrot cells // J. Cell Sci. – 1993. – **106**. – P. 1347–1356.
- McCormack B.A., Gregory A.C., Kerry M.E. et al. Purification of an elicitor induced glucansynthase (callose synthase) from suspension cultures of Frenchbean (*Phaseolus vulgaris*): purification and immunolocalization of a probable Mr-65000 subunit of the enzyme // Planta. – 1997. – **203** – P. 196–203.
- McMichael C.M., Bednarek S. Cytoskeletal and membrane dynamics during higher plant cytokinesis // New Phytologist. – 2013. – **197**. – P. 1039–1057.
- McNeil M., Darvill A.G., Albersheim P. The Structural Polymers of the Primary Cell Walls of Dicots // Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. – 1979. – **37**. – P. 191–249.
- McQueen-Mason S., Durachko D.M., Cosgrove D.J. Two endogenous proteins that induce cell wall expansion in plants // Plant Cell. – 1992. – **4**. – P. 1425–1433.
- Meier H., Reid J.S.G. Morphological aspects of the galactomannan formation in endosperm of *Trigonella foenum-graecum* L. (Leguminosae) // Planta. – 1977. – **133**. – P. 243–248.
- Menden B., Kohlhoff M., Moerschbacher B.M. Wheat cell accumulate a syringil-rich lignin during the hypersensitive resistance response // Phytochemistry. – 2007. – **68**. – P. 513–529.
- Miller R.H. The prevalence of pores and canals in leaf cuticular membranes // Ann. Bot. – 1985. – **55**. – P. 459–471.
- Miller R. H. The morphology and permeability of isolated cuticular membranes of *Hoya carnosus* R. Br. (Asclepiadaceae) // Ann. Bot. – 1986. – **58**. – P. 407–416.
- Mio T., Adachi-Shimizu M., Tachibana Y. et al. Cloning of the *Candida albicans* homolog on *Saccharomyces cerevisiae* GSC1/FKS1 and its involvement in β -1,3-glucan synthesis // J. Bacteriol. – 1997. – **179**. – P. 4096–4105.
- Missler M., Sudhof T.C. Three genes and 1001 products // Trends Genet. – 1998. – **14**. – P. 20–26.
- Mitsuda N., Iwase A., Yamamoto H. et al. NAC transcription factors, NST1 and NST3, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of *Arabidopsis* // Plant Cell. – 2007. – **19**. – P. 270–280.
- Mitsuda N., Seki M., Shinozaki K., Ohme-Takagi M. The NAC transcriptional factors NST1 and NST2 of *Arabidopsis* regulates secondary wall thickening and are required for anther dehiscence // Plant Cell. – 2005. – **17**. – P. 2993–3006.
- Mohnen D. Biosynthesis of pectins // Pectins and their Manipulation. Eds. Seymour G.B., Knox J.P. – Oxford: Blackwell Publishing and CRC Press, 2002. – P. 52–98.
- Mohnen D. Pectin structure and biosynthesis // Curr. Opin. in Plant Biol. – 2008. – **11**. – P. 266–277.
- Mole C., Jones R.L. Calcium and GA-induced elongation of lettuce hypocotyls sections // Planta. – 1981. – **152**. – P. 450–456.
- Mølhøj M., Pagant S., Höfte H. Towards understanding the role of membrane-bound endo- β -1,4-glucanases in cellulose biosynthesis // Plant Cell Physiol. – 2002. – **43**. – P. 1399–1406.

- Montezinos D., Brown R.M. Surface architecture of the plant cell biogenesis of the cell wall with special emphasis on the role of the plasma membrane in cellulose biosynthesis // J. Supramol. Struct.–1976. – 5. – P. 277–290.
- Montezinos D., Brown R.M. Cell wall biogenesis in *Oocytis*: experimental alteration of microfibril assembly and orientation // Cytobios. – 1978. – 23. – P. 119–139.
- Mori K., Motoshima H., Takeuchi M. Study of cell wall regeneration of protoplasts in *Marchantia polymorpha* L. // Bot. Mag. – 1983. – 96. – P. 281–289.
- Mortenson E., Dreyfuss G. RNP in maize protein // Nature. – 1989. – 337. – P. 312.
- Mozingo H. N., Klein P., Zeevi Y., Lewis E. R. Scanning electron microscope studies on *Sphagnum imbricatum* // Bryologist.– 1969. – 72. – P. 484–488.
- Mundy, J., Chua N.-H. Abscisic acid and water-stress induce the expression of a novel rice gene // EM60 J. – 1988. – 7. – P. 2279-2286.
- Mueller C., Riederer M. Plant surface properties in chemical ecology // Chem. Ecol. – 2005. – 31. – P. 2621–2651.
- Mueller S.C., Brown R.M. Evidence for an intra membrane component associated with a cellulose microfibril synthesizing complex in higher plants // J. Cell Biol. – 1980. – 84. – P. 315–326.
- Nakamura A., Furuta H., Maeda H. et al. Analysis of the molecular construction of xylogalacturonan isolated from soluble soybean polysaccharides // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2002, a. – 66. – P. 1155-1158.
- Nakamura A., Furuta H., Maeda H. et al. Structural studies by stepwise enzymic degradation of the main backbone of soybean soluble polysaccharides consisting of galacturonan and rhamnogalacturonan // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2002, b. – 66. – P. 1301-1313.
- Nakamura M., Ehrhardt D.W., Hashimoto T. Microtubule and katan independent dynamics of microtubule nucleation complexes in the acentrosomal *Arabidopsis* cortical array // Nature Cell Biol. – 2010. – 12. – P. 1064–1070.
- Nakamura W. Biosynthesis of lignin. I. Disproof against the catalytic activity of laccase in the oxidation of coniferyl alcohol // J. Biochem. (Japan). Methods in plant biochemistry. – 1967. – 1. – P. 54-61.
- Nakashima J., Laosinchai W., Cui X., Brown R.M. New insight into the mechanism of cellulose and callose biosynthesis: proteases may regulate callose biosynthesis upon wounding // Cellulose.– 2003. – 10. – P. 369–389.
- Nebenfuhr A., Gallagher L.A., Dunahay T.G. et al. Stop-and-go movements of plant golgi stacks are mediated by the acto-myosin system // Plant Physiol. – 1999. – 121. – P. 1127-1141.
- Nebenfuhr A., Staehelin L.A. Mobile factories: Golgi dynamics in plant cells // Trends Plant Sci. – 2001. – 6. – P. 160-167.
- Nesar Uddin. Effect of salinity in the first phase of salt stress on leaf cell-wall components of maize with special reference to cell-wall extensibility // A Thesis submitted for the requirement of the doctor degree in Agriculture from Faculty of Agricultural Sci., Nutritional Sci. and Environmental Management Justus Leibig University Giessen. VVB Lauferweler, Verlag, Germany. – 2012. – P. 1-118.
- Neta Holland, Holland D., Helentjaris T. et al. A comparative analysis of the plant cellulose synthase (*CesA*) gene family // Plant Physiol. – 2000. – 123. – P. 1313–1324.
- Nicol F., His I., Jauneau A. et al. A plasma membrane-bound putative endo-1,4-b-D-glucanase i required for normal wall assembly and cell elongation in *Arabidopsis* // EMBO J. – 1998. – 17. – P. 5563–5576.
- Nishikawa S., Zinkl G.M., Swanson R.J. et al. Callose (beta-1,3 glucan) is essential for *Arabidopsis* pollen wall patterning, but not tube growth // BMC Plant Biol. – 2005. – 5: 22. (doc. 10. 1186/1471-2229-5-22).
- Nishimura M., Stein M., Hou B. et al. Loss of callose synthase results in salicylic acid dependent disease resistance // Science. – 2003. – 301. – P. 969–972.
- Nishio J.N., Sun J., Vogelmann Th. Photoinhibition and the light environment within leaves // Photoinhibition of Photosynthesis. Eds. N. Baker and J. Bowyer. – Oxford: Ltd. Uk., 1994. – P. 221-237.
- Nishiyama Y., Sugiyama J., Chanzy H., Langan P. Crystal structure and hydrogen bonding system in cellulose 1 α from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction // J. Am. Chem. Soc. – 2003. – 125. – P. 14300–14306.

- Nishiyama Y., Langan P., Chanzy H. Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose 1 β from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction // J. Am. Chem. Soc. – 2002. – **124**. – P. 9074–9082.
- Nobles D.R., Romanovicz D.K., Brown R.M. Jr. Cellulose in cyanobacteria: origin of vascular plant cellulose synthase? // Plant Physiol. – 2001. – **127**. – P. 529–542.
- Norman P.M., Kjellbom P., Bradley D.J. et al. Immunoaffinity purification and biochemical characterization of plasma membrane arabinogalactan-rich glycoproteins of *Nicotiana glutinosa* // Planta. – 1990. – **181**. – P. 365–373.
- Northcote D.H. The synthesis and assembly of plant cell walls: possible control mechanism // Cell Surface Rev. – 1977. – **4**. – P. 717–739.
- Northcote D.H. Macromolecular aspects of cell all differentiation // Encyclop. Plant Physiol. Berlin: Springer, Verlag. – 1982. – **14**. – P. 637–655.
- Northcote D.H. Control of cell wall assembly during differentiation // Giorn. Bot Ital. – 1984. – **18**. – P. 41–54.
- Nuhse T.S., Stensballe A., Jensen O.N., Peck S.C. Phosphoproteomics of the *Arabidopsis* plasma membrane and a new phosphorylation site database // Plant Cell. – 2004. – **16**. – P. 2394–2405.
- O'Brien T., Kuo J. Development of the suberized lamella in the mestome sheath of wheat leaves // Aust J. Bot. – 1975. – **23**. – P. 783–794.
- Olesen P. Plasmodesmata between mesophyll and bundle sheath cells in relation to the exchange of C₄-acids // Planta. – 1975. – **123**. – P. 199–202.
- Olson A.N., Ernst H.A., Leggio L.L., Skriver K. NAC transcription factors: Structurally distinct, functionally diverse // Trends Plant Sci. – 2005. – **10**. – P. 79–87.
- O'Neil M., Albersheim P., Darvill A. The pectic polysaccharides of primary cell walls // In: Methods in Plant Biochemistry. Ed. Dey P.M. – London: Acad.Press, 1990. – Vol. **2**. – P. 415–441.
- O'Neill M.A., Eberhard S., Reuhs B. et al. Covalent cross-linking of primary cell wall polysaccharides is required for normal plant growth // Adv. in Pectin and Pectinase Research. Eds F. Voragen, H. Schols, R. Visser. Kluwer, Dordrecht, 2003. – P. 61–73.
- O'Neil M., Ishii T., Albersheim P., Darvill A.G. Rhamnogalacturonan II: structure and function of aborate cross-linked cell wall pectic polysaccharide // Annu. Rev. Plant. Biol. – 2004. – **55**. – P.109–139.
- O'Neil M.A., York W. The composition and structure of plant primary cell walls // In: The Plant Cell. Ed. Rose J.K.C. – N/Y.: Ithaca, Blackwell Publishing/CRC Press, 2003. – P. 1–54.
- Ohana P., Benziman M., Delmer D.P. Stimulation of callose synthesis *in vivo* correlates with changes in intracellular distribution of the callose synthase activator [beta]-furfuryl- [beta]-glucoside // Plant Physiol. – 1993. – **101**. – P. 187–191.
- Ooka H., Satoh K., Doi K. Et al. Comprehensive analysis on NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*. // DNA Res. – 2003. – **10**. – P. 239– 247.
- Osborne D.J. Auxin and ethylene and the control of cell growth. Identification of three classes of target cells // Plant growth regulation. Berlin, Heidelberg, N.Y.: Springer Verlag, 1977. – P. 161–177.
- Palme A., Buldt C., Javonovic S.M. Absolutes molekulargewicht der native cellulose der alge *Volonia* // Makromol. Chem. – 1976. – **177**. – P. 1063–1072.
- Panayotatos N., Villemez C.L. The formation of a β -(1,4)-D-galactan chain catalased by a *Phaseolus aureus* enzyme // Biochem. J. – 1973. – **133**. – P. 263–271.
- Parameswaran N., Wilhelm G., Liese W. Ultrastructural aspects of beech bark degradation by fungi // Eur. J. For. Pathol. – 1976. – **6**. – 274–286.
- Parre E., Geitmann A. More than a leak sealant. The mechanical properties of callose in pollen tubes // Plant Physiol. – 2005. – **137**. – P. 274–286.
- Passardi F., Longet D., Penel C., Dunand C. The class III peroxidase multigenic family in rice and its evolution in land plants // Phytochemistry. – 2004. – **65**. – P. 1879–1893.
- Pattathil S., Harper A.D., Bar-Peled M. Biosynthesis of UDPxylose: characterization of membrane-bound *At Uxs2* // Planta. -2005. – **221**. – P. 538–548.
- Pen L.C., Kawagoe Y., Hogan P., Delmer D. Sitosterol- β -glucoside as primer for cellulose synthesis in plants // Science. – 2002. – **295**. – P. 147–150.

- Pennell R.I., Janniche L., Kjellbom I.S. et al. Developmental regulation of a plasma membrane arabinogalactan protein epitope in oilseed rape flowers // *Plant Cell*. – 1991. – **3**. – P. 1317-1326.
- Pennell R.I., Roberts K. Sexual development in the pea is presaged by altered expression of arabinogalactan protein // *Nature*. – 1990. – **334**. – P. 547-549.
- Perez M.D., Zhang Y., Hayes J. et al. Structure and Interactions on Plant Cell-Wall Polysaccharides by Two- and Three-Dimensional Magic-Angle-Spinning Solid-State NMR // *Biochemistry*. – 2011. – **50**. – P. 989–1000.
- Perrin R.M., DeRocher A.E., Bar-Peled M. et al. Xyloglucanfucosyltransferase, an enzyme involved in plant cell wall biosynthesis // *Science*. – 1999. – **284**. – P. 1976-1979.
- Perrone P., Hewage C.M., Sadler I.H. et al. N alpha- and N epsilon-D-galacturonoyl-L-lysine amides: properties and possible occurrence in plant cell walls // *Phytochemistry*. – 1998. – **49**. – P. 1879–1890.
- Pesacreta Th.C., Hasenstein K. The internal cuticle of *Cirsium horridulum* (Asteraceae) leaves. // *Amer. J. Bot.* – 1999. – **86**. – P. 923–928.
- Peterson C., Emmanuel M., Weerdenburg C.A. The permeability of thickenings in apple (*Pyrus malus*) and geranium (*Pelargonium hortorum*) roots to an apoplastic fluorescent dye tracer // *Can. J. Bot.* – 1981. – **59**. – P. 1107-1110.
- Peterson R.L., Hambleton S. Guard cell ontogeny in leaf stomata of the fern *Ophioglossum petiolatum* // *Can. J. Bot.* – 1978. – **56**. – P. 2836–2852.
- Pfǘndel E.E., Agati G., Cerovic Z.C. Optical properties of plant surfaces // In: *Biology on the plant cuticle*. Eds. Riederer M., Müller C. Annual plant reviews, Oxford, UK: Blackwell. – 2006. – **3**. – P. 216–239.
- Pillonel Ch., Meier N. Influence of external factors on callose and cellulose synthesis during incubation *in vitro* of intact cotton fibres with ¹⁴C sucrose // *Planta*. – 1985. – **165**. – P.76-84.
- Pimrote K., Yun Tian Y., Xiangyang Lu X. Transcriptional regulatory network controlling secondary cell wall biosynthesis and biomass production in vascular plants // *Afr. J. Biotechnology*. – 2012. – **11**(75). – P. 13928–13937.
- Pirselova B., Mistrikova V, Libantova J. et al. Study on metal-triggered callose deposition in roots of maize and soybean // *Biologia*. – 2012. – **67**. – P.1–8.
- Platt-Aloia K.A., Thomson W.W., Young R.E. Ultrastructural changes in the walls of ripening avocados: transmission, scanning and freeze fracture microscopy // *Bot. Gaz.* – 1980. – **141**. – P. 366–373.
- Pollard M., Beisson F., Li Y., Ohrogge J.B. Building lipid barriers: biosynthesis of cutin and suberin // *Trends Plant Sci.* – 2008. – **13**. – P. 236–246.
- Pozuelo J., Espelie K., Kolattukudy P. Magnesium deficiency results in increased suberization in endodermis and hypodermis of corn roots // *Plant Physiol.* – 1984. – **74**. – P. 256-260.
- Preston R. Structural and mechanical aspects of plant cell walls with particular reference to synthesis and growth // In: *Formation of wood in forest trees*. – London, N.Y.: Acad. Press, 1964. – P. 169–188.
- Preston R. The physical biology of plant cell walls. – London: Chapman, Yall, 1974. – P. 1–491.
- Preston R. Polysaccharide conformation and cell wall function // *Ann. Rev. Plant Phys.* – 1979. – **30**. – P. 55–78.
- Preston R. The case for multinet growth in growing walls of plant cells // *Planta*. – 1982. – **155**. – P. 356-363.
- Quader H., Heath W., Ryser U., Schnepf E. Cytoskeleton elements in cotton seed hair development *in vitro*: their possible regulation role in cell wall organization // *Protoplasma*. – 1987. – **137**. – P. 56–62.
- Quader H., Robinson D.G. *Oocystis solitaria*: a model organism for understanding the organization of cellulose synthesis // *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* – 1981. – **94**. – P. 75–84.
- Quiroga M., Guerrero C., Botella M.A. et al. A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin // *Plant Physiol.* – 2000. – **122**. – P. 1119–1127.
- Ralph J., Hatfield R.D., Piquemal J. et al. NMR characterization of altered lignins extracted from tobacco plants down-regulated for lignification enzymes cinnamyl-alcohol dehydrogenase and cinnamoyl-CoA reductase // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1998. – **95**. – P. 12803-12808.
- Rayle D.L., Cleland R.E. Enhancement of wall lessening and elongating by acid solutions // *Plant Physiol.* – 1970. – **46**. – P. 250–253.
- Rayle D.L., Cleland R.E. The acid growth theory of auxin induced cell elongation is alive and well // *Plant Physiol.* – 1992. – **99**. – P. 1 271–1274.

- Raymond Y., Fincher L.B., MacLachlan L.A. Tissue slice and particulate β -glucan synthetase activities from *Pisum epicotyls* // Plant Physiol. – 1978. – **61**. – P. 938–942.
- Raz R., Cdtin C., Puigdom Qnech P. et al. The sequence of a hydroxyproline-rich glycoprotein gene from *Sorghum vulgare* // Plant Mol. Biol. – 1991. – **16**. – P. 365–367.
- Razen F., Bernads M. Reactive oxygen species production in association with suberization: evidence for an NADPH-dependent oxidase // J. Exp. Bot. – 2003. – **54**. – P. 935–941.
- Reichelt S., Knight A.E., Hodge T.P. et al. Characterization of the unconventional myosin VIII in plant cells and its localization at the post-cytokinetic cell wall // Plant J. – 1999. – **19**. – P. 555–567.
- Reiss H.D., Herth W. Calcium gradients in tip growing plant cells visualized by chlorotetracycline fluorescence // Planta. – 1979. – **146**. – P. 615–621.
- Reiss H.D., Schnepf E., Herth W. The plasma membrane of *Funaria* caulonema tip cell: morphology and distribution of particle rosettes and the kinetics of cellulose synthesis // Planta. – 1984. – **160**. – P. 428–435.
- Reiter W-D., Vanzin G.F. Molecular genetics of nucleotide sugar interconversion pathways in plants // Plant Mol. Biol. – 2001. – **47**. – P. 95–113.
- Reiter W.D. *Arabidopsis thaliana* as a model system to study synthesis, structure, and function of the plant cell wall // Plant Physiol. Biochem. – 1998. – **36**. – P. 167–176.
- Reynhardt E. C., Riederer M. Structures and molecular dynamics of plant waxes. II. Cuticular waxes from leaves of *Fagus sylvatica* L. and *Hordeum vulgare* L. // Eur. Biophys. – 1994. – **23**. – P. 59–70.
- Richmond T. Higher plant cellulose synthases // Genome Biol – 2000. – **4**. – P. 30011–30016.
- Richmond T.A., Somerville C.R. The cellulose synthase superfamily // Plant Physiol. – 2001. – **124**. – P. 495–498.
- Ridley B.L., O'Neil M., Mohnen D. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonate-related signaling // Phytochemistry. – 2001. – **57**. – P. 929–967.
- Riederer M., Schreiber L. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles // J. Exp. Bot. – 2001. – **52**. – P. 2023–2032.
- Rinne P.L.H., Kaikuranta P.M., van der Schoot C. The shoot apical meristem restores its symplasmic organization during chilling-induced release from dormancy // Plant J. – 2001. – **26**. – P. 249–264.
- Rmuiz-Avila L., Ludevid M.D., Pulgdomhech P. Differentia1 expression of a hydroxyproline-rich cell-wall protein gene in embryonic tissues of *Zea mays* L. // Planta. – 1991. – **184**. – P. 130–136.
- Robards A., Clarkson D., Sanderson J. Structure and permeability of the epidermal/ hypodermal layers of the sand sedge (*Corex arenaria* L.) // Protoplasma. – 1979. – **101**. – P. 331–347.
- Robards A.W., Lucas W.J. Plasmodesmata // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1990. – **41**. – P. 369–419.
- Robards A.W. A new interpretation of plasmodesmatal ultrastructure // Planta. – 1968. – **82**. – P. 200–210.
- Robards A. Cell wall synthesis and orientation // Progress in Botany. – 1980. – **42**. – P. 11–15.
- Robert S., Bichet A., Grandjean O. et al. An Arabidopsis endo-1,4-b-D-glucanase involved in cellulose synthesis under goes regulated intracellular cycling // Plant Cell. – 2005. – **17**. – P.3378–3389.
- Roberts A.W., Roberts E.M.. Cellulose synthase (CesA) genes in algae and seedless plants. // Cellulose. – 2004. – **11**. – P. 419–435.
- Roberts A.W., Roberts E.M., Delmer D.P. Cellulose synthase (CesA) genes in the green alga *Mesotaenium caldariorum* // Eukaryot. Cell. – 2002. – **1**. – P.847–855.
- Robinson D.G., Eisinger W.R., Ray P.M. Dynamics of the Golgi system in wall matrix polysaccharide synthesis and secretion by pea cells // Ber. Deutsch. Bot. Ges. – 1976. – **89**. – P. 147–161.
- Robinson D., Quader H. Structure, synthesis and orientation of microfibrils. IX. A freeze–fractures investigation of the *Oocystis* plasma membrane after inhibitor treatments // Eur. J. Cell Biol. – 1981. – **25**. – P. 278–288.
- Robinson D., Quader A. The microtubule–microfibril–syndrome // The cytoskeleton in plant growth and development. London: Acad Press, 1982. – P. 109–126.
- Roelofsen P.A. Cell wall structure as related to surface growth // Acta Bot. Neer. – 1958. – **7**. – P. 77–89.
- Roelofsen P.A., Houwink A.L. Architecture and growth of the primary cell wall in some plant hairs and in the *Phycomyces sporangiophores* // Acta Bot. Neerl. – 1953. – **2**. – P. 2.
- Rohde W., Rosch K., Krliger K., Salamini F. Nucleotide sequence of a *Hordeum vulgare* gene encoding aglycine-rich protein with homology to vertebrate cytokeratins // Plant Mol. Biol. – 1990. – **14**. – P. 1057–1059.

- Roland J.C. The relationship between the plasmalemma and plant cell wall // *Internat. Rev. Cytol.* – 1973. – **36**. – P. 45–92.
- Roland J.C., Vian B. The wall of the growing cell: its three dimensional organization // *Internat. Rev. Cytol.* – 1979. – **61**. – P. 129–166.
- Ros Barcelo´ A., Go´mez Ros L.V., Ferrer M.A., Herna´ndez J.A. The apoplastic antioxidant enzymatic system in the wood-forming tissues of trees // *Trees: Structure and Function.* – 2006. – **20**. – P. 145–156.
- Ross C.W., Rayle D.L. Evaluation of H⁺-secretion relative to zeatin induced growth of detached cucumber cotyledons // *Plant Physiol.* – 1982. – **70**. – P. 1470–1474.
- Ross P., Mayer R., Benziman M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria // *Microbiol. Rev.* – 1991. – **55**. – P. 35–38.
- Rossingnol M., Lamant D., Salsac L. et al. Calcium fixation by the root calcicole and calcifuges plants: the importance of membrane systems their lipid composition // *Transmembrane ionic exchange in plants.* Paris: Editions de l'Universsite, 1977. – P. 483–490.
- Roux S.J., Slocum R.D. Role of calcium in mediating cellular functions important for growth and development in higher plants // *Calcium and Cell Function.* N.Y., London: Acad. Press, 1982. – Vol. **3**. – P. 409–453.
- Ruan Y.L., Xu S.M., White R., Furbank R.T. Genotypic and developmental evidence for the role on plasmodesmatal regulation in cotton fiber elongation mediated by callose turnover // *Plant Physiol.* – 2004. – **136**. – P. 4104–4113.
- Rubin E.M. Genomics of cellulosic biofuels // *Nature.* – 2008. – **454**. – P. 841–845.
- Rudolph U., Schnepf E. Investigations of the turnover of the putative cellulose-synthesizing particle rosettes within the plasma membrane of *Funaria hygrometrica* protonema cells. I. Effects of monensin and cytochalasin B // *Protoplasma.* – 1988. – **143**. – P. 63–73.
- Ryan C.A. Oligosaccharides as recognition signals for the expression of defensive genes in plants // *Biochemistry.* – 1988. – **27**. – P. 8879–8883.
- Sadava D., Chrispeels M. Synthesis and secretion of cell wall glycoprotein in carrot root disks // *Biochemistry of wounded plant tissue.* Berlin, N.Y.: Walter de Gruyter, 1978. – P. 85–102.
- Saheed S.A., Cierlik I., Larsson K.A.E et al. Stronger induction of callose deposition in barley by Russian wheat aphid than bird cherry-oat aphid is not associated with differences in callose synthase or beta-1,3-glucanase transcript abundance // *Physiol. Plant.* – 2009. – **135**, Issue 2. – P. 150–161.
- Saka S., Goring D.A.I. Localization of lignins in wood cell walls. // In: *Biosynthesis and Biodegradation of wood components.* Ed. T. Higuchi. Orlando: Academic. – 1985. – P. 51–62.
- Sakurai N., Masuda Y. Effect of indole-3-acetic acid on cell wall loosening: changes in mechanical properties and no cellulosic glucose content of *Avena* coleoptiles cell wall // *Plant and Cell Physiol.* – 1977. – **18**. – P. 587–594.
- Salts Y., Wachs R., Gruissem W., Barg R. Sequence coding for a novel proline-rich protein preferentially expressed in young tomato fruit // *Plant. Mol. Biol.* – 1991. – **17**. – P. 149–150.
- Samuels A.L., Giddings T.H., Staehelin L.A. Cytokinesis in tobacco BY-2 and root tip cells: a new model of cell plate formation in higher plants // *J. Cell Biol.* – 1995. – **130**. – P. 1345–1357.
- Sandhu A., Randhawa G., Dhugga K. Plant Cell Wall Matrix Polysaccharide Biosynthesis // *Molecular Plant.* – 2009. – **2**. – P. 840–850.
- Sangster A. G., Hodson M. J., Tubb H. J. Silicon deposition in higher plants. In: *Silicon in agriculture.* Eds. Datnoff G.H., Snyder G. – Korndoerfer. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier., 2001. – P. 85–114.
- Sarkanen K., Hergert H.L. Classification and distribution // In: *Lignins occurrence, formation and reactions.* Eds. K. Sarkanen and C.H. Ludwig. New York: Wiley-Interscience, – 1971. – P. 43–94.
- Sarko A. Muggli R. Packing analysis of carbohydrates and polysaccharides: III. Valonia cellulose and cellulose II. // *Macromolecules.* -1974. – **7**. – P.486–494.
- Sasaki S., Nishida T., Tsutsumi Y., Kondo R. Lignin dehydrogenative polymerization mechanism: a poplar cell wall peroxidase directly oxidizes polymer lignin and produces *in vitro* dehydrogenative polymer rich in b-O-4 linkage // *FEBS Letters.* – 2004. – **562**. – P. 197–201.

- Sasaki S., Nonaka D., Wariishi H. et al. Role of Tyr residues on the protein surface of cationic cell-wall-peroxidase (CWPO-C) from poplar: potential oxidation sites for oxidative polymerization of lignin // *Phytochemistry*. – 2008. – **69**. – P. 348–355.
- Sasidharan R., Voeselek L., Pierik R. Cell wall modifying proteins mediate plant acclimatization to biotic and abiotic stresses // *Critical Rev. Plant Sci.* – 2011. – **30**. – P. 548–562
- Saurin A.J., Borden K.L.B., Boddy M.N., Freemont P.S. Does this have a familiar RING? // *Trends Biochem. Sci.* – 1996. – **21**. – P. 208–214.
- Sawamura M., Knecht E., Bruinsma J. Levels of endogenous ethylene, carbon dioxide, and soluble pectin, and activities of pectin methylesterase and polygalacturonase in ripening tomato fruits // *Plant and Cell Physiol.* – 1978. – **19**. – P. 1061–1069.
- Saxena I.M., Brown R.M.Jr. Cellulose biosynthesis: current views and devolving concepts // *Ann. Bot. (Lond.)*. – 2005. – **96**. – P.9–21.
- Saxena I.M., Brown R.M. Jr., Dandekar T. Structure-function characterization of cellulose synthase :relationship to other glycosyltransferases // *Phytochemistry*. – 2001. – **57**. – P. 1135–1148.
- Saxena I.M., Brown R.M Jr., Fevre M. et al. Multidomain architecture of b-glycosyl transferases: implications for mechanism of action // *J. Bacteriol.* – 1995. – **177**. – P.1419–1424.
- Schadel Ch. Cell-wall hemicelluloses as mobile carbon stores in plants // *Dissertation in aurald, Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel.* – 2009. – P. 1-55.
- Scheggia C., Prisco A.E., Dey P.M. et al. Alteration of lectin pattern in potato tuber by virus X. // *Plant Sci.* – 1988. – **58**. – P. 9-14.
- Scheible W.R., Eshed R., Richmond T. et al. Modifications of cellulose synthase confer resistance to isoxaben and thiazolidinone herbicides in *Arabidopsis lxr1* mutants // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2001. – **98**. – P. 10079–10084.
- Scheres E., van de Wiel C., Zalensky A. et al. The ENODIP gene product is involved in the infection process during the pea-*Rhizobium* interaction // *Cell.* – 1990. – **60**. – P. 281-294.
- Scherp P., Grotha R., Kutschera U. Occurrence and phylogenetic significance of cytokinesis-related callose in green algae, bryophytes, ferns and seed plants // *Plant Cell Rep.* – 2001. – **20**. – P. 143–149.
- Schlupmann H., Bacic A., Read S.R. A novel callosesynthase from pollen tubes of *Nicotiana* // *Planta.* – 1993. – **191**. – P. 470–481.
- Schmidt A., Datta K., Marcus A. Peptidyl proline hydroxylation and the growth of a soybean cell culture // *Plant Physiol.* – 1991. – **96**. – P. 656-659.
- Schmidt H.W., Schonherr J. Fine-structure of isolated and nonisolated potato-tuber periderm // *Planta.* – 1982. – **154**. – P. 76–80.
- Schmitz K. Algae // In: Sieve elements. Comparative structure, induction and development. Eds. H. D. Behnke, R. D. Sjolund. Springer-Verlag, 1990. – P. 1-18 .
- Schmutz A., Buchala A.J., Ryser U. Changing the dimensions of suberin lamellae of green cotton fibers with a specific inhibitor of the endoplasmic reticulum-associated fatty acid elongases // *Plant Physiol.* – 1996. – **110**. – P. 403–411.
- Schmutz A., Jenny T., Amrhein N., Ryser U. Caffeic acid and glycerol are constituents of the suberin layers in green cotton fibres // *Planta.* – 1993. – **189**. – P. 453–460.
- Schneider B., Deichgraber C., Herth W. Development of cell wall appendages in *Acatosphaera zachariasi* (Chlorococcales), kinetics, size of cellulose synthesis and of microfibril assembly and barb formation // *Protoplasma.* – 1982. – **110**. – P. 203–214.
- Schneider B., Herth W. Distribution of plasma membrane rosetts and kinetics of cellulose formation in xylem development of higher plants // *Protoplasma.* – 1986. – **131**. – P. 142–152.
- Schönherr J. Resistance of plant surfaces to water loss: transport properties of cutin, suberin and associated lipids / *Physiol. Plant Ecology. II. Encyclopedia of Plant Physiology.*, Lange O., Nobel P., Osmond C., Ziegler H., eds. – Heidelberg: Springer, 1982. – Vol. **2 B**. – P. 153–179.
- Schönherr J. Characterization of aqueous pores in plant cuticles and permeation of ionic solutes // *J. Exp. Bot.* – 2006. – **57**. – P. 2471-2491.

- Schopfer C. R., Hepler P. Distribution of membranes and the cytoskeleton during cell plate formation in pollen mother cells of *Tradescantia* // *Journal of Cell Science*. – 1991. – **100**. – P. 717–728.
- Schreiber L., Schorn K., Heimburg T. ²H NMR study of cuticular wax isolated from *Hordeum vulgare* L. leaves: identification of amorphous and crystalline wax phases // *Eur. Biophys. J.* – 1997. – **26**. – P. 371–380.
- Schreiber L., Skrabs M., Hartmann K.D. et al. Effect of humidity on cuticular water permeability of isolated cuticular membranes and leaf disks // *Planta*. – 2001. – **214**. – P. 274–282.
- Schrick K., Fujioka S., Takatsuto S. et al. A link between sterol biosynthesis, the cell wall, and cellulose in *Arabidopsis* // *Plant J.* – 2004. – **38**. – P. 227–243.
- Schweikert C., Liszczay A., Schopfer P. Scission of polysaccharides by peroxidase-generated hydroxyl radicals // *Phytochemistry*. – 2000. – **53**. – P. 565–570.
- Schultz C.J., Hauser K., Lind J.L. et al. Molecular characterisation of a cDNA sequence encoding the backbone of a style-specific 120 kDa glycoprotein which has features of both extensins and arabinogalactan-proteins // *Plant Mol. Biol.* – 1997. – **35**. – P. 833–845.
- Seguí-Simarro J.M., Austin J.R., White E.A., Staehelin L.A. Electron tomographic analysis of somatic cell plate formation in meristematic cells of *Arabidopsis* preserved by high-pressure freezing // *The Plant Cell*. – 2004. – **16**. – P. 836–856.
- Seifert G.J. Nucleotide sugar interconversions and cell wall biosynthesis: how to bring the inside to the outside // *Curr. Opin Plant Biol.* – 2004. – **7**. – P. 277–284.
- Serra O., Soler M., Hohn C. et al. Silencing of StKCS6 in potato periderm leads to reduced chain lengths of suberin and wax compounds and increased peridermal transpiration // *J. Exp. Bot.* – 2009, a. – **60**. – P. 697–707.
- Serra O., Soler M., Hohn C. et al. CYP86A33-targeted gene silencing in potato tuber alters suberin composition, destroys suberin lamellae, and impairs the periderm's water barrier function // *Plant Physiol.* – 2009, b. – **149**. – P. 1050–1060.
- Serra O., Hohn C., Franke R. et al. A feruloyl transferase involved in the biosynthesis of suberin and suberin-associated wax is required for maturation and sealing properties of potato periderm // *The Plant Journal*. – 2010. – **62**. – P. 277–290.
- Sheng J., D'Ovidio R., Mehdy M.C. Negative and positive regulation of a novel proline-rich protein mRNA by fungal elicitor and wounding // *Plant J.* – 1991. – **1**. – P. 345–354.
- Shetty N., Jensen J., Knudsen A. et al. Effect of β -1,3-glucan from *Septoria tritici* on structural defence responses in wheat // *J. Exp. Bot.* – 2009. – **60**. – P. 4287–4300.
- Shin H., Brown, R.M. GTPase activity and biochemical characterization of a recombinant cotton fiber annexin // *Plant Physiol.* – 1999. – **119**. – P. 925–934.
- Showalter A.M. Structure and Function of Plant Cell Wall Proteins // *The Plant Cell*. – 1993. – **5**. – P. 9–23.
- Showalter A.M., Rumeau D. Molecular biology of the plant cell wall hydroxyproline-rich glycoproteins // *Organization and Assembly of Plant and Animal Extracellular Matrix*. Eds. Adair W.S., Mecham R.P. – N.Y.: Acad. Press, 1990. – P. 247–281.
- Showalter A.M., Varner J.E. Plant hydroxyproline-rich glycoproteins // *The Biochemistry of Plants*. Eds. Stumpf P.K., Conn E. – N.Y.: Acad. Press, 1989. – Vol. **15**. – P. 485–520.
- Showalter A.M., Zhou J., Rumeau D. et al. Tomato extensin and extensin-like cDNAs: Structure and expression in response to wounding // *Plant Mol. Biol.* – 1991. – **16**. – P. 547–565.
- Sitte P. Zum Feinbauder suberins chichten in flasche kork // *Protoplasma*. – 1962. – **54**. – P. 555–559.
- Sivaguru M., Fujiwara T., Samaj J. et al. Aluminum-induced 1,3-b-D-glucan inhibits cell to-cell trafficking on molecules through plasmodesmata: a new mechanism of aluminum toxicity in plants // *Plant Physiol.* – 2000. – **124**. – P. 991–1005.
- Soliday C., Dean B., Kolattukudy P. Suberization: inhibition by washing and stimulation by abscisic acid in potato disks and tissue culture // *Plant Physiol.* – 1978. – **61**. – P. 170–174.
- Soll H.J., Bottger M. The mechanism of proton-induced increase in wall extensibility // *Plant Sci. Lett.* – 1982. – **24**. – P. 163–171.
- Somerville C. Cellulose synthesis in higher plants // *Annu Rev. Cell Dev. Biol.* – 2006. – **22**. – P.53–78.

- Steeves C., Foster H., Pommer U., Savidge R. Coniferyl alcohol metabolism in conifers. I. Glucosidic turnover of cinnamyl aldehydes by UDPG: coniferyl alcohol glucosyltransferase from pine cambium // *Phytochemistry*. – 2001. – **57**. – P. 1085–1093.
- Sterjiades R., Dean J.F.D., Eriksson K.E.L. Laccase from *Sycamore Maple* (*Acer-Pseudoplatanus*) Polymerizes Monolignols // *Plant Physiol.* – 1992. – **99**. – P. 1162–1168.
- Stiefel V., PBrez-Grau L., Albericio F. et al. Molecular cloning of cDNAs encoding a putative cell wall protein from *Zea mays* and immunological identification of related polypeptides // *Plant Mol. Biol.* – 1988. – **11**. – P. 483–493.
- Stone B.A., Clarke A.E. Chemistry and physiology on higher plant 1,3- β -glucans (callose) // In: *Chemistry and Biology of (1-3)- β -Glucans*. Eds. Stone B.A., Clarke A.E. – Bundoora, Australia: LaTrobe Univ. Press, 1992. – P. 365–429.
- Stuart D.A., Varner J.E. Purification and characterization of a salt-extractable hydroxyproline-rich glycoprotein from aerated carrot discs // *Plant Physiol.* – 1980. – **66**. – P. 787–792.
- Sturm A. A wound-inducible glycine-rich protein from *Daucus carota* with homology to single-stranded nucleic acid-binding proteins // *Plant Physiol.* – 1992. – **99**. – P. 1689–1692.
- Subbaiah C.C., Sachs M.M. Altered patterns of sucrose synthase phosphorylation and localization precede callose induction and root tip death in anoxic maize seedlings // *Plant Physiol.* – 2001. – **125**. – P. 585–594.
- Subramaniam R., Reinold S., Molitor E.K., Douglas C.J. Structure, inheritance, and expression of hybrid poplar (*Populus trichocarpa* x *Populus deltoides*) phenylalanine ammonia-lyase genes // *Plant Physiol.* – 1993. – **102**. – P. 71–83
- Sugawa S., Inamoto Y., Ushijima M. Resolution and some properties of acid phosphatase isozymes bound to the cell wall of potato tubers // *Agr. and Biol. Chem.* – 1981. – **45**. – P. 1767–1773.
- Sugimoto K., Williamson R.E., Wasteneys G.O. New techniques enable comparative analysis of microtubule orientation, wall texture, and growth rate in intact roots of *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2000. – **124**. – P. 1493–1506.
- Sugiyama J., Vuong R., Chanzy H. Electron diffraction study of the two crystalline phases occurring in native cellulose from an algal cell wall // *Macromolecules*. – 1991. – **24**. – P. 4168–4175.
- Tagawa T., Bonner J. Mechanical properties of *Anena* coleoptiles as related to auxin and to ionic interaction // *Plant Physiol.* – 1957. – **32**. – P. 207–212.
- Takahama U., Oniki T. Effects of ascorbate on oxidation of hydroxycinnamic acid derivatives and the mechanism of oxidation of sinapic acid by cell wall-bound peroxidases // *Plant and Cell Physiol.* – 1994. – **35**. – P. 593–600.
- Takeda K., Shibaoka H. Effects of gibberellins and colchicine on microfibril arrangement in epidermal cell walls of *Vigna angularis* Ohwi et Phashi during cell growth // *Planta*. – 1981. – **151**. – P. 393–398.
- Talbott L.D., Ray P.M. Implications for models of primary wall structure // *Plant Physiol.* – 1992. – **92**. – P. 357–368.
- Tanimoto E. Axial distribution of glycosidases in relation to cellular growth and aging in *Pisum sativum* root // *J. Exp. Bot.* – 1985. – **169**. – P. 1267–1274.
- Tanimoto E., Igari M. Correlation between β -galactosidase and auxin-induced elongation growth in etiolated pea stems // *Plant Cell Physiol.* – 1976. – **17**. – P. 673–882.
- Tanimoto E., Masuda Y. Effect of auxin on cell wall degrading enzymes // *Physiol. Plant.* – 1968. – **21**. – P. 820–826.
- Taylor L.P. Pollen germination and tube growth // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1997. – **48**. – P. 461–491.
- Tepfer M., Taylor L.E. The interaction of divalent cations with pectic substances and their influence on acid induced cell wall loosening // *Can. J. Bot.* – 1981. – **59**. – P. 1522–1525.
- Terashima N., Fukushima K., He L.F., Takabe K. Comprehensive model of the lignified plant cell wall // In: *Forage Cell wall structure and digestibility*. Ed. H. Jung, D. Buston, R. Hatfield, J. Ralph. , Madison: ASA-CSSA-SSSA. – 1993. – P. 247–270.

- Terashima N., Fukushima K., Tsuchiya S.* Heterogeneity in formation of lignin VII. An autoradiographic study on the formation of guaiacyl and syringyl lignin in poplar // *J. Wood Chem. Technol.* – 1986 a. – **6**. – P. 495-504.
- Terashima N., Fukushima K., Takabe K.* Heterogeneity in formation of lignin VIII. An autoradiographic study on the formation of guaiacyl and syringyl lignin in *Magnolia kobus* dc. // *Holzforschung.* – 1986, b. – **40**. – P. 101-105.
- Terauchi M., Nagasato C., Kajimura N. et al.* Ultrastructural Study of Plasmodesmata in the Brown Alga *Dicetyota dichotoma* // *Protoplasma.* – 1994. – **180**. – P. 169-184.
- Terry B.T., Robards A.W.* 1987. Hydrodynamic radius alone governs the mobility of molecules through plasmodesmata // *Planta.* – 1987. – **171**. – P. 145–157.
- Thiele K., Wanner G., Kindziarski V. et al.* The timely deposition of callose is essential for cytokinesis in *Arabidopsis* // *Plant J.* – 2008. – **58**, Issue 1. –P. 13–26.
- Thom D., Grant G.T., Morris E.R., Rees D.A.* Characterization of cation binding and gelation of polyuronates by circular dichroism // *Carbohydrate Res.* – 1982. – **100**. – P. 29–42.
- Thomas J. Ross G., Hastain C. et al.* Cytokinin-induced wall extensibility in excised cotyledons of radish and cucumber // *Plant Physiol.* – 1981. – **68**. – P. 107–110.
- Thompson J.R., Douglas C.M., Li W. Et al.* A glucan synthase *FKS1* homolog in *Cryptococcus neoformans* is single copy and encodes an essential function // *J. Bacteriol.* – 1999. – **181**. – P. 444–453.
- Thompson J.E., Fry S.C.* Evidence for covalent linkage between xyloglucan and acidic pectins in suspension-cultured rose cells // *Planta.* – 2000. – **211**. – P. 275–286.
- Thompson J.E., Fry S.C.* Restructuring of wall-bound xyloglucan by transglycosylation in living plant cells // *Plant J.* – 2001. – **26**. – P. 23–34.
- Thomson W., Platt-Alola K., Koller D.* Ultrastructure and development of the trichomes of *Larrea* (*Creosotebush*) // *Bot. Gaz. (Chicago).* – 1979. – **140**. – P. 249-260.
- Tierney M.L., Wiechert J., Plumbers D.* Analysis of the expression of extensin and p33-related cell wall proteins in carrot and soybean // *Moll. Gen. Genet.* – 1988. – **211**. – P. 393-399.
- Traas J., Bellini C., Nacry P. et al.* Normal differentiation patterns in plants lacking microtubular preprophase bands // *Nature.* – 1995. – **375**. – P. 676–677.
- Tsekos I.* The sites of cellulose synthesis in algae: diversity and evolution of cellulose-synthesizing enzyme complexes // *J. Phycol.* – 1999. – **35**. – P. 635–655.
- Tsuji Y., Fukushima K.* Behavior of monolignol glucosides in angiosperms // *J. Agriculture and Food Chemistry.* – 2004. – **52**. – P. 7651–7659.
- Turner S.R., Taylor N., Jones L.* Mutations of the secondary cell wall // *Plant Mol. Biol.* – 2001. – **47**. – P. 209–219.
- Valent B.S., Albersheim P.* The structure of plant cell walls. V. On the binding of xyloglucan to cellulose fibers // *Plant Physiol.* – 1974. – **54**. – P. 105–108.
- van de Wiel C., Scheres B., Franssen H. et al.* The early nodulin transcript ENOD2 is located in the nodule parenchyma (inner cortex) of pea and soybean root nodules // *EMBO J.* – 1990. – **9**. – P. 1-7.
- Van Den Ende G., Linskens H.* Cutinolytic enzymes in relation to pathogenesis // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 1974. – **12**. – P. 247-258.
- Van de Geijn S.G., Petit C.M.* Transport of divalent cations // *Plant Physiol.* – 1979. – **64**. – P. 954–958.
- van der Schoot C., Rinne P.L.H.* Dormancy cycling at the shoot apical meristem: transitioning between self-organization and self-arrest // *Plant Sci.* – 2011. – **180**, Issue 1. – P. 120–131.
- Van der Woude W., Morre D.J., Bracker C.* Isolation and characterization of secretory vesicles in germinated pollen of *Lilium longiflorum* // *J. Cell Sci.* – 1971. – **8**. – P. 331–351.
- Vanholme R., Demedts B., Morreel K. et al.* Lignin biosynthesis and structure // *Plant Physiol.* – 2010. – **153**. – P. 895–905.
- van Holst G.J., Fincher G.B.* Polyproline II conformation in the protein component of arabinogalactan-protein from *Lolium multiflorum* // *Plant Physiol.* – 1984. – **75**. – P. 1163-1164.
- van Kan J.A.L., Cornelissen B., Boi J.F.* A virus inducible tobacco gene encoding a glycine-rich protein shares putative regulatory elements with the ribulose biphosphate carboxylase small subunit gene // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 1988. – **1**. – P. 107-112.

- Vanzin G.F., Madson M., Carpita N.C. et al. The *mur2* mutant of *Arabidopsis thaliana* lacks fucosylated xyloglucan because of a lesion in fucosyltransferase AtFUT1 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – **99**. – P. 3340-3345.
- Vamer J.E., Lin L.S. Plant cell wall architecture // Cell. – 1989. – **56**. – P. 231–239
- Vamer J.E., Cassab G.I. A new protein in petunia // Nature. – 1986. – **323**. – P. 110.
- Vaten A., Dettmer J., Wu S. et al. Callose biosynthesis regulates symplastic trafficking during root development // Dev. Cell. – 2011. – **21**, Issue 6. – P. 1144–1155.
- Vaughn K.C., Talbot M.J., Offler C.E., McCurdy D.W. Wall ingrowths in epidermal transfer cells of *Vicia faba* cotyledons are modified primary walls marked by localized accumulations of arabinogalactan proteins // Plant Cell Physiol. – 2007. – **48**. – P. 159–168.
- Vergara C.E., Carpita N.C. b-D-Glycan synthases and the CesA gene family: lessons to be learned from the mixed-linkage (1/3),(1/4)-b-D-glucan synthase // Plant Mol. Biol. – 2001. – **47**. – P. 145–160.
- Verma D.P.S. Cytokinesis and building of the cell plate in plants // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 2001. – **52**. – P. 751–784.
- Verma D.P.S., Hong Z. Plant callose synthase complexes // Plant Mol. Biol. – 2001. – **47**, Issue 6. – P. 693–701.
- Verma D.P.S., MacLachlan G.A., Byrne H., Ewings D. Regulation and *in vitro* translation of messenger RNA for cellulase from auxin-treated pea epicotyls // J. Biol. Chem. – 1975. – **250**. – P. 1019–1026.
- Vesper M.J. Use of a pH-response curve for growth to predict apparent wall pH in elongating segments of maize coleoptiles and sunflower hypocotyls // Planta. – 1985. – **166**. – P. 96–104.
- Vian B., Roland J.C. The helicoidal cell wall as a time register // New Phytol. – 1987. – **105**. – P. 345–357.
- Virk C., Cleland R. Calcium and the mechanical properties of soybean hypocotyls cell walls: possible role of calcium and protons in cell wall loosening // Planta. – 1988. – **176**. – P. 60–67.
- Vithanage H.I.M.V., Gleeson P.A., Clarke A.E. The nature of callose produced during self-pollination in *Secale cereale* // Planta. – 1980. – **148**, Issue 5. – P. 498–509.
- Wagner G. J., Wang E., Shephers R. W. New approaches for studying and exploiting and protuberance, the plant trichome // Ann. Bot. – 2004. – **93**. – P. 3–11.
- Waldron K.W. The subcellular localization of a glucurontransferase involved in glucuronoxylan biosynthesis in pea (*Pisum sativum*) epicotyls // Plant Sci. – 1987. – **49**. – P. 1–8.
- Wardrop A. The phase of lignification in the differentiation of wood fibers // Tappi. – 1957. – **40**. – P. 225–243.
- Wataru A., Sasaki S., Matsumura S. et al. Sinapyl alcohol-specific peroxidase isoenzyme catalyzes the formation of the dehydrogenative polymer from sinapyl alcohol // J. Wood Sci. – 2002. – **48** – P. 497–504.
- Wattendorff J. Ultrastructure of the suberized styloid cells in *Agave* leaves // Planta. – 1976, a. – **128**. – P. 163–165.
- Wattendorff J. Ultrastructure A third type of raphide crystal in the plant kingdom: six-side draphides with laminated sheaths in *Agave americana* L. // Planta. – 1976, b. – **130**. – P. 303–311.
- Weingartner M., Binarova P., Drykova D. et al. Dynamic recruitment of Cdc2 to specific microtubule structures during mitosis // The Plant Cell. – 2011. – **13**. – P. 1929–1943.
- Welinder K.G., Justesen A.F., Kjaersgard I.V.H. et al. Structural diversity and transcription of class III peroxidases from *Arabidopsis thaliana* // Eur. J. Biochem. – 2002. – **269**. – P. 6063–6081.
- Wen M., Buschhaus C., Jetter R. Nanotubules on plant surfaces: chemical composition on epicuticular wax crystals on needles of *Taxus baccata* L. // Phytochem. – 2007. – **67**. – P. 1808–1817.
- Weng J.K., Li X., Bonawitz N., Chapple C. Emerging strategies of lignin engineering and degradation for cellulosic biofuel production // Curr. Opin. Biotechnol. – 2008. – **19**. – P. 166–172.
- Weng J.K., Takuya Akiyama, Nicholas D. Bonawitz et al. Convergent evolution of syringyl lignin biosynthesis via distinct pathways in the Lycophyte *Selaginella* and flowering plants // The Plant Cell. – 2010. – **22**. – P. 1033–1045.
- Whetten R., Sederoff R. Lignin Biosynthesis // Plant Cell. – 1995. – **7**. 1001–1013.
- Whetten R., Sun, Y.H., Zhang Y., Sederoff R. Functional genomics and cell wall biosynthesis in loblolly pine. // Plant Mol. Biol. – 2001. – **47**. – P. 275–291.
- Whitmore F.W. Lignin-protein complex catalyzed by peroxidase // Plant Sci. Lett. – 1978. – **13**. – P. 241–245.

- Whitney S.E., Bringham J.E., Darke A.H. et al. *In vitro* assembly of cellulose/xyloglucan networks: ultrastructural and molecular aspects // Plant J. – 1995. – **8**. – P. 491–504.
- Willats W.G.T., McCartney L., Mackie W., Knox J.P. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis // Plant Mol. Biol. – 2001. – **47**. – P. 9–27.
- Willför S., Sundberg A., Pranovich A., Holmbom B. Polysaccharides in some industrially important hard wood species // Wood Sci. and Techn. – 2005. – **39**. – P. 601–617.
- Williamson R, Burn J, Hocart C. Cellulose synthesis: mutational analysis and genomic perspectives using *Arabidopsis thaliana* // Cell. Mol. Life Sci. – 2001. – **58**. – P. 1475–1490.
- Willison J. Secretion of cell wall material in higher plants // Encyclopedia of Plant Physiol. Berlin, Heidelberg, N.Y.: Springer Verlag, 1981. – **13 B**. – P. 513–541.
- Willison J., Brown R.M.Jr. An examination of the developing cotton fiber, wall and plasmalema // Protoplasma. – 1977. – **92**. – P. 21–42.
- Willison J., Brown R.M.Jr. Cell wall structure and deposition in *Glaucocystis* // J. Cell Biol. – 1978. – **77**. – P. 103–119.
- Wison W., Barwick J., Lomax J. et al. Lignified and nonlignified cell walls from kale // Plant Sci. – 1988. – **57**. – P. 83–90.
- Wissemeier A.H., Dening A., Hergenroder A. et al. Callose formation as parameter for assessing genotypical plant tolerance of aluminium and manganese // Plant Soil. – 1992. – **14**. – P. 67–75.
- Woessner J.P., Goodenough U.W. Molecular characterization of a zygote wall protein: An extensin-like molecule in *Chlamydomonas reinhardtii* // Plant Cell. – 1989. – **1**. – P. 901–911.
- Wu L., Joshi C.P., Chiang V.L. A xylem-specific cellulose synthase gene from aspen (*Populus tremuloides*) responsive to mechanical stress // Plant J. – 2000. – **22**. – P. 495–502.
- Wu X., Weigel D., Wigge P. Signaling in plants by intercellular RNA and protein movement // Genes and Development. – 2002. – **16**. – P. 151–158.
- Wuytack R., Gillet C. Nature des liaisons de l'ion calcium dans la paroi de *Nitella flexilis* // Can. J. Bot. – 1978. – **56**. – P. 1439–1443.
- Xie B., Hong Z. Unplugging the callose plug from sieve pores // Plant Signal. and Behav. – 2011. – **6**. – P. 491–493.
- Yamaguchi M., Demura T. Transcriptional regulation of secondary wall formation controlled by NAC domain proteins // Plant Biotechnol. – 2010. – **27**. – P. 237–242.
- Yamaya T., Tamigawa M., Konno H., Matsumoto H. Increase in cell wall associated phosphatase activity in *Cucumber* roots during calcium starvation: binding nature and properties of the phosphatase and cell wall analysis // Plant and Cell Physiol. – 1982. – **23**. – P. 1175–1182.
- Yapo B.M., Lerouge P., Tgibault J.-F., Ralet M.C. Pectins from citrus peel cell walls contain homogalacturonans homogenous with respect to molar mass, rhamnogalacturonan I and rhamnogalacturonan II // Carbohydr. Polym. – 2007. – **69**. – P. 426–435.
- Yasuhara H. Caffeine inhibits callose deposition in the cell plate and the depolymerization of microtubules in the central region of the phragmoplast // Plant Cell Physiol. – 2005. – **46**. – P. 1083–1092.
- Yates D., Hutley L.B. Polar uptake of water by wet leaves of *Sloanea woollsii*, an Australian subtropical rainforest tree // Austral. J. Bot. – 1995. – **43**. – P. 157–167.
- Yatsu L., Espelie K., Kolattukudy P. Ultrastructural and chemical evidence that the cell wall of green cotton fiber is suberized // Plant Physiol. – 1983. – **73**. – P. 521–524.
- Ye Z.-H., Vamer J.E. Tissue-specific expression of cell wall proteins in developing soybean tissues // Plant Cell. – 1991. – **3**. – P. 23–37.
- Yim Kyu-Ock, Bradford K.J. Callose deposition is responsible for apoplastic semipermeability of the endosperm envelope of muskmelon seeds // Plant Physiol. – 1998. – **118**. – P. 83–90.
- York W.S., Darvill A.G., Albersheim P. Inhibition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-stimulated elongation of pea stems segments by a xyloglucan oligosaccharide // Plant Physiol. – 1984. – **75**. – P. 295–297.
- Yoshinaga A., Fujita M., Saiki H. Cellular distribution of quaiacyl and syringyl lignins within annual ring in oak wood // Mokuzai Gakkaishi. – 1997. – **43**. – P. 384–390.

- Zandieven J., Sorensen S.O., Harholt J. et al. Xylogalacturonan exists in cell walls from various tissues of *Arabidopsis thaliana* // *Phytochemistry*. – 2007. – **68**. – P. 1219-1226.
- Zavaliev R., Ueki S., Epel B.L., Citovsky V. Biology of callose (β -1,3-glucan) turnover at plasmodesmata // *Protoplasma*. – 2011. – **248**. – P. 117–130.
- Zhang S.-J., Song X.-Q., Yua X.-Q. et al. Identification of Quantitative Trait Loci Affecting Hemicellulose Characteristics Based on Cell Wall Composition in a Wild and Cultivated Rice Species // *Mol. Plant*. – 2012. – **5**. – P. 162–175.
- Zhang Z., Hong Z., Verma D.P.S. Phragmoplastin polymerizes into spiral coiled structures via intermolecular interaction of two self-assembly domains // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**. – P. 8779–8784.
- Zhao Q., Gallego-Giraldo L., Wang H. et al. An NAC transcription factor orchestrates multiple features of cell wall development in *Medicago truncatula* // *Plant J.* – 2010. – **63**. – P. 100–114.
- Zhong R., Lee C., Zhou J., McCarthy R.L., Ye Z.H. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. – 2008. – **20**. – P. 2763–2782.
- Zhong R., Lee C., Ye Z.H. Evolutionary conservation of the transcriptional network regulating secondary cell wall biosynthesis // *Trends Plant Sci.* – 2010. – **15**. – P. 625–632.
- Zhong R., Ye Z.H. MYB46 and MYB83 bind to the SMRE sites and directly activate a suite of transcription factors and secondary wall biosynthetic genes // *Plant Cell Physiol.* – 2012. – **53**. – P. 368–380.
- Zhou J., Lee C., Zhong R., Ye Z.H. MYB58 and MYB63 are transcriptional activators of the lignin biosynthetic pathway during secondary cell wall formation in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. – 2009. – **21**. – P. 248–266.
- Zhu C., Dixit R. Functions of the Arabidopsis kinesin superfamily of microtubule-based motor proteins // *Protoplasma*. – 2011. – **249**. – P. 887–899.

ДРУГИЙ РОЗДІЛ

ВПЛИВ НЕСПРИЯТЛИВИХ УМОВ ОТОЧУЮЧОГО СЕРЕДОВИЩА НА СТРУКТУРУ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ КЛІТИННИХ ОБОЛОНОК РОСЛИН

ВСТУП

Рослина на дію зовнішніх умов навколишнього середовища відповідає фенотипічною пластичністю росту та розвитку (вегетативних та генеративних органів), тривалістю онтогенезу як окремого виду, так і популяції. Згідно поглядів відомого ботаніка Є.Л. Кордюм адаптація рослин до дії факторів оточуючого середовища – це пристосування як у філогенезі (фітнес), так і в онтогенезі (оперативна адаптація) рослин. Адаптація (на рівні клітини, організму та популяції) визначається сукупністю різноманітних особливостей організації, що забезпечує й реалізує життєздатність та специфічний спосіб життя в певних умовах оточуючого середовища в процесі індивідуального розвитку – онтогенезі (Кордюм, 1996; 2001; 2003; Кордюм, Сытник, 2003). Відповідно до положень, які розвиває Є.Л. Кордюм, адаптація може проходити двома шляхами: 1) швидка акліматизація у відповідь на добові та сезонні зміни екологічних факторів, а також при дії надмірної дози якогось фактору (стрес) та 2) тривала адаптація до помірної хронічної дії несприятливих змін екологічних факторів.

Враховуючи, що певна дія несприятливих факторів для одних рослин може бути стресом, для інших – оптимальними умовами існування, то визначення стресу для рослинного організму досить складне. Ураховуючи, що вищі рослини є прикріпленими до ґрунту, складно виміряти силу, що діє на рослину. Тому визначення стресу для рослини виявилось досить складним та проблематичним. Згідно із численними визначеннями, стрес – це шкідлива і несприятлива сила чи умови, які інгібують нормальне функціонування біологічної системи, зокрема, рослин.

За визначенням, де Оліва та співавторів, стрес для рослини є відповіддю на дію несприятливих чи навіть згубних для росту та розвитку зовнішніх факторів. Для рослини стрес вимірюється як ознаками виживання, так і ознаками адаптації, кількістю врожаю, ростовими параметрами, асиміляцією (CO_2 та мінералів), яка пов'язана з ростом рослини (De Olivera et al., 2013).

Зовнішні сигнали навколишнього середовища, а саме, світло, температура та водний статус ґрунту – це найважливіші сигнали, що діють на ріст рослини. Сприйняття цих сигналів та відповідь рослини на них зачіпає цілий каскад подій, що потребують сприйняття сигналу та його трансдукції у фізіологічну відповідь. Важливу роль у сигналізації стресу відіграють іони кальцію, фітогормони (АБК) та реактивні форми кисню (РФК) (Knight et al., 1997).

На думку дослідників, у сприйнятті сигналів несприятливих абіотичних стресів, у першу чергу, беруть участь білкові рецептори клітинної оболонки, які передають цей сигнал на систему транспортування в цитоплазму. Такими рецепторами клітинних оболонок, очевидно, є молекули арабіногалактанових білків, які зв'язують клітинну оболонку із плазмалемою, елементами цитоскелета та складовими апопласта. Крім цих білків, рецепторами сприйняття стресу можуть бути білки MAP (mitogen-activated proteins), численні кінази та кілька

транскрипційних факторів. Стрес спочатку сприймається рецепторами клітинної оболонки, які передають сигнал на рецептори цитоплазматичної мембрани, потім сигнал реформується та знижується, і результатом цього перетворення є участь вторинних посередників, включаючи іони кальцію, реактивні форми кисню та фосфати інозитулу. Збільшення вмісту цитозольного кальцію відбувається за участю механо-чутливих та ліганд-активованих кальцієвих каналів цитоплазматичної мембрани. Збільшення вмісту кальцію в цитоплазмі веде до посилення сигналу за участю фосфоліпідів (Yadov, 2010). Такі вторинні посередники, як фосфати інозитулу, модулюють вміст іонів кальцію, до таких змін дуже чутливими є кальцій-залежні білки, відомі як кальцієві сенсори, які можуть підвищувати (чи втрачати) свою активність та змінювати свою конформацію кальцій-залежним способом. Ca^{2+} -залежна протеїніназа, Ca^{2+} -зв'язуючий транскрипційний фактор, фосфатаза, кальмодулін (CaM). Ca^{2+} -зв'язуючі білки є первинними сенсорами зміни вмісту кальцію в цитоплазмі (Knight et al., 1997; Shinozaki, Yamaguchi-Shinozaki, 2000; Tuteja, Tuteja, 2004). Такі білки часто включаються в каскад фосфорилування й стають мішеннями для основних стресових генів чи транскрипційних факторів, що контролюють роботу цих генів.

Несприятливий вплив екологічних факторів може модулювати експресію генів, що беруть участь у зміні балансу фітогормонів: АБК, саліцилової кислоти та етилену. Останні можуть посилювати початкову сигналізацію та викликати повторне (друге) коло сигналізації стресу, використовуючи синтез інших білків. Експресія цих генів досить стійка. Гени, що задіяні при стресах, зокрема, у відповідь на обезводнення (RD, responsive to dehydration), індукції холодом (KIN, cold induced), відповідь на охолодження (COR, cold responsive) кодують білки, що відповідають за формування антиоксидантів, стабілізуючих білків та синтез осмолітиків (Mahajan, Tuteja, 2005). Якщо пізнати основні чи більшість шляхів сигналізації екстремальних змін екологічних факторів, то можна підвищити адаптацію видів до цього стресу.

Основними типами абіотичних стресів для рослини є (Mahajan, Tuteja, 2005):

1. Холод (зниження температури нижче оптимальної та мороз у повітрі)
2. Висока температура
3. Засолення
4. Посуха (водний дефіцит у ґрунті)
5. Затоплення
6. Радіація (інтенсивна ультрафіолетова радіація та видиме освітлення)
7. Хімікати, а також забруднювачі ґрунту та повітря (важкі метали, аерозолі, пестициди)
8. Окислювальний стрес (реактивні форми кисню, озон)
9. Вітер (пісок та пилюка в повітрі)
10. Нестача або відсутність поживних речовин у ґрунті.

Біотичні стреси викликаються вторгненням у рослини патогенів: грибів, бактерій, вірусів, комах, гризунів, тощо.

Не дивлячись на такий довгий список абіотичних та біотичних стресів, з якими рослини постійно стикаються на протязі онтогенезу, ми розглянемо найбільш суттєві несприятливі впливи оточуючого середовища, зокрема, дію важких металів, холоду, посухи, засолення та зміну водного режиму, які суттєво впливають на ріст рослин. Крім того, ми розглянемо дію мікро- та гіпергравітації, а також вплив біотичних факторів на рослинний організм і участь клітинних оболонок в адаптації до дії несприятливого впливу таких стресорів.

2.1. ВПЛИВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Відомо, що дефіцит або ж надмірна кількість катіонів металів може викликати аномалії в рості та розвитку рослин, що висвітлено на фізіологічному та молекулярному рівнях. Агрономам добре відома дія основних хімічних елементів живлення на ріст сільськогосподарських рослин. Останнім часом у зв'язку із забрудненням ґрунтів інтенсивно почали вивчати й дію токсичних важких металів на рослини. Такі метали, як мідь, свинець, залізо, кобальт, молібден, ртуть, хром, срібло, стронцій, уран, цинк та інші елементи є у відходах промисловості. Катіони важких металів, попадаючи в ґрунт, а потім у ріки та моря, забруднюють як суходіл, так і водне середовище. З дощами та ґрунтовими водами важкі метали всмоктуються рослинами, це приводить, як до токсикації сільськогосподарських рослин, які людина споживає в їжу, так і до токсикації всього живого у водоймах (Ke et al., 2007; Singh et al., 2011).

Відомо, що компоненти клітинних оболонок рослин здатні зв'язувати дво- та тривалентні іони металів. Саме полісахариди відіграють критичну роль у зв'язуванні та акумуляції таких іонів, хоча й інші складові оболонок, такі, як білки, амінокислоти та феноли також беруть участь у цьому процесі (Krzyszowska, 2011). Здатність зв'язувати дво- та тривалентні аніони залежить від числа функціональних груп у складі оболонок, зокрема, таких, як COOH^- , OH^- та SH^- (Borman, 1990; Dronnet et al., 1996). Але найбільшою ефективністю до зв'язування дво- і тривалентних катіонів проявляють карбоксильні групи, яких дуже багато в альгінатах водоростей (Davies et al., 2003), гомогалактуронанах мохоподібних та судинних рослин (Dronnet et al., 1996). Функціональні метильні та карбоксильні групи містяться в молекулах усіх типів пектинів: гомогалактуронанів, рамногалактуронанів I та рамногалактуронанів II, а також ксиланів.

Встановлено такий ряд здатності низько метилетерифікованих пектинів зв'язувати дво- та тривалентні іони:

$\text{Al}^{3+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} = \text{Ca}^{2+}$ чи $\text{Cu}^{2+} = \text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} = \text{Zn}^{2+} > \text{Ca}^{2+}$ (Dronnet et al., 1996), або ж $\text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ (Ernst et al., 1992; Karlet et al., 1999). Таким чином, показано, що іони міді та свинцю найбільш ефективно зв'язуються з пектинами, тоді як іони цинку, нікелю та кальцію - є слабо зв'язуючими. Крім того, встановлено, що іони кальцію можуть замінювати Al^{3+} -зв'язки в пектинах, це й пояснює, що у більшості випадків при забрудненні алюмінієм та іншими іонами, алюміній не впливає на зв'язування металів із клітинними оболонками. При зв'язуванні функціональних груп пектинів з іонами металів змінюється структура ланцюгів пектинів чи альгінату (рис. 2.1.1) (Krzyszowska, 2011).

Катіони важких металів у вигляді агрегатів із фосфатами та іншими аніонами накопичуються у вигляді електроннощільних гранул різного розміру в міжклітинниках, оболонці, ендоцитозних везикулах та вакуолях (Jiang, Liu, 2010).

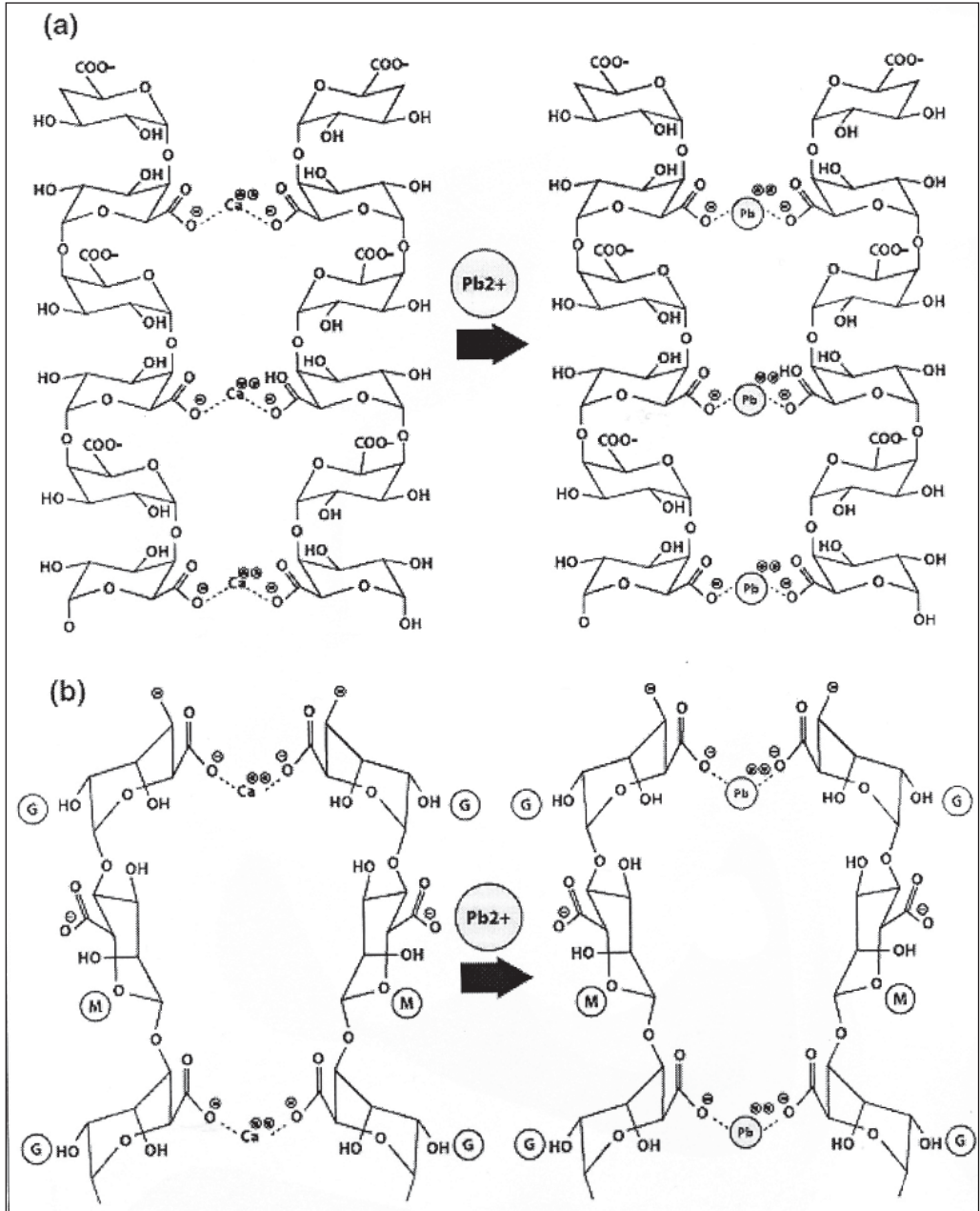


Рис. 2.1.1. Поперечне з'єднання між полімерами низько метилетерифікованих пектинів в клітинній оболонці вищих рослин (a) та між залишками альгінової кислоти в оболонці бурих водоростей (b) (Krzeslowska, 2011)

Цікавим, на наш погляд, є феномен, який свідчить, що ендемічні рослини, які ростуть на забруднених важкими металами ґрунтах, накопичують у сто разів більше іонів металів, ніж неакумуляючі види. Прикладом можуть бути мідний мох (*Scopelophila cataractae*) та плаун японський (*Lycopodium japonicum*), які накопичують у клітинних оболонках до 66 % міді (Konno et al., 2010), тобто, для очищення забруднених ґрунтів від токсичних металів варто забруднені території засаджувати саме подібними видами.

Рослини мають здатність до часткової детоксикації, зокрема, акумуляції іонів металів в клітинних оболонках та вакуолях; а також до хелатування, тобто зв'язування токсичних елементів із пептидами, що являються фітохелатинами важких іонів (Cobbett, 2000). Так, В. Джианг та Д. Ліу (Jiang, Liu, 2010), досліджуючи вплив свинцю (10^{-4} М) на меристематичні клітин цибулі (*Allium sativum*), показали накопичення електроннощільних гранул не тільки у клітинних оболонках, які формували протуберанці (інвагінаційні вп'ячування) в цитоплазму, а й у ендодитозних везикулах, які через кілька годин впливу з'являлись в цитоплазмі та у вакуолях. Таким чином, клітина позбавлялась від іонів важкого металу, акумуляючи їх у вакуолях.

Для дослідження механізму процесу детоксикації автори провели цитохімічну реакцію на наявність цистеїн-збагачених білків, які характерні для пептидів, фітохелетинів важких іонів (Cobbett et al., 2000). Дослідження підтвердило, що клітини позбувалися цих іонів завдяки з'єднанню іонів металів із пептидами, утворюючи комплекс фітохелатину та Pb в клітинних оболонках, цитоплазматичних везикулах та вакуолях, які акумуляували важкі катіони (Jiang, Liu, 2010).

У механізмі транспортування катіонів з апопласту до вакуолі (шляхом ендодитозу) беруть участь АТФази, що містять метал-зв'язуючі домени (із наявністю аміно- чи карбоксильних груп, що відрізняє їх від АТФаз Р-типу) (Williams et al., 2005).

Ще одним механізмом детоксикації рослини за умов забруднення ґрунтів важкими металами є посилений синтез низько метилетерифікованих пектинів у клітинних оболонках, що показано на коренях рослин *Cucurbita maxima* (Le et al., 1994), *Triticum aestivum* (Hossain et al., 2006) та *Zea mays* (Schmohl et al., 2000). Необхідно також відмітити, що в процесі детоксикації від металів-забруднювачів бере участь і полісахарид калоза, яка починає синтезуватися за таких умов як в оболонках, так і в плазмодесмах (Krzeslowska et al., 2010; de Snodder et al., 2005), утворюючи бар'єр для транспорту іонів важких металів. Крім цього, виявлені й значні потовщення клітинних оболонок (Liu et al., 2004), очевидно, як за рахунок інтенсифікації синтезу пектинів та калози, так і шляхом акумуляції в апопласті значних відкладів іонів металів.

Тепер зупинимося конкретно на дії основних металів-забруднювачів.

Мідь. Мідь є суттєвим елементом для життєдіяльності рослини, її дефіцит у ґрунті викликає такі дефекти росту, як хвилясте (чи вигнуте) стебло та галуження (Turnbull et al., 1994). Щодо механізмів впливу міді на клітини, то відомо, що мідь відіграє важливу

роль у процесах окиснення/відновлення, зокрема, у функціонуванні таких білків, як: пластоціан, цитохромоксидаза, лаказа (фенолоксидаза), аскорбатоксидаза, супероксидаоксидаза та амінооксидаза (Cvetanovska et al., 2010). Дослідниками показано, що мідь в апопласті може викликати утворення гідроксирадикалів, які можуть руйнувати структуру полісахаридів клітинних оболонок і, таким чином розпушувати оболонку, стимулюючи дозрівання плодів та опадіння органів (Fry et al., 2002). Автори зробили висновок, що іони міді, зв'язані із оболонкою, діють подібно сайт-специфічним прооксидантам, які індукують розрив ланцюгів полісахаридів.

Високий вміст міді у ґрунті є токсичним для рослини і впливає на фотосинтез та ріст рослин (Inmaculada, 2005). Недавно описано накопичення важких металів у рослинах, що було виявлено методом рентгенівської спектроскопії (Liu et al., 2007), а також цитохімічним та електронномікроскопічним методами (Jiang, Liu, 2010). Донгуа зі співавторами (Donghua et al., 2009), вивчаючи вплив міді (CuSO_4) у концентрації 10^{-3} , 10^{-4} та 10^{-5} М протягом 72 годин на ділення клітин та ультраструктурні зміни клітин коренів у проростків *Allium sativum* встановили, що через 72 год знижувався поділ клітин у 6-9 разів в залежності від концентрації, відмічено зниження (при самій високій концентрації) удвічі числа клітин у метафазі та втричі – в анафазі, крім того, виявлені ще й хромосомні аберації. На ультраструктурному рівні спостерігали порушення структури ядерної мембрани, конденсацію хроматину та руйнацію цитоплазматичних органел (Donghua et al., 2009).

Іноді мідь у незначних кількостях стимулює синтез лігніну в рослинних клітинах. Чим менше міді в середовищі, тим менше й лігніну (Robson et al., 1981), і навпаки, більше міді – сильніша лігніфікація. У сосни, яка росла при дефіциті Cu^{2+} , дослідники спостерігали зниження лігніфікації в серединній пластинці (Downes et al., 1991).

При вирощуванні проростків *Capsicum annuum* на середовищі з надлишком міді (50 mM CuSO_4) встановлено значне підвищення активності шикиматдегідрогенази та поліфенолоксидази у гіпокотиліях, що супроводжувалося збільшенням накопичення фенольних речовин та лігніну (Diaz et al., 2001). У коренях *Raphanus sativus*, що росли на середовищі з міддю (1-10 mM CuSO_4), виявлено підвищення активності катіонної та аніонної пероксидази, а також високий рівень лігніну в порівнянні з рослинами, що росли на середовищі без міді (Chen et al., 2002). У коренях сої мідь також викликала підвищення біосинтезу лігніну та активності пероксидази (Barnes et al., 1997). Вирощування суспензійної культури з коренів *Panax ginseng* на високих концентраціях міді викликало підвищений синтез лігніну та активацію пероксидази, CAD, фенолоксидази та β -глюкозидази (Akgül et al., 2007). Таким чином, іони міді, що відіграють суттєву роль у функціонуванні пероксидаз та лаказ, також опосередковано беруть участь у окисленні та полімеризації монолігнінів.

Бор та цинк. Бор – мікроелемент, що має важливе значення для росту та розвитку рослини (Goldbach et al., 2007). Дефіцит бору спостерігається при значних дощових опадах, впливаючи на врожай сільськогосподарських культур, зокрема, на врожай пшениці (*Triticum aestivum*), вівса (*Hordeum sativum*) та інших культур (Jamjod et al., 2004). Це пов'язано з тим, що бор локалізується в основному в клітинній оболонці. При дефіциті бору інгібується клітинний розтяг, тому що саме цей елемент поперечно зв'язує пектиновий рамногалактуронан П (O'Neill et al., 2004). Крім того, припускають, що бор утворює дипентозоборатний комплекс, який стабілізує рибозу, арабінозу та ксилозу (Ricardo et al., 2004) і, таким чином, впливає на механічну міцність оболонки.

Дефіцит бору впливав на провідні тканини коренеплодів моркви (*Daucus carota*, cv. Nantes) (Demiray, Dereboylu, 2013). Анатомічними дослідженнями показана лігніфікація серединної пластинки в трахеальних клітинах при дефіциті бору. Крім того, за допомогою скануючої електронної мікроскопії виявлені парамуральні тільця в оболонках трахеальних елементів.

При дефіциті бору спостерігається зниження мРНК семи ізоферментів ксилотрансглюкозилаз (гідролаз), двох експансинів (*EXP14* та *EXPB1*), двох полігалактуроназ (*t1g05650* та *At2g43880*), двох пектинметилестераз (*PME2* та *At3g10720*) та одного ізоферменту пектатліази (*At3g07010*) у коренях *Arabidopsis thaliana* (Camacho-Cristybal et al., 2008). Ці дослідження припускають, що бор необхідний для стабілізації поперечно зв'язаних молекул рамногалактуронану II (Kobayashi, et al., 1996), і для цього необхідна регуляція на рівні транскрипції генів, залучених до синтезу та модифікації ферментів біогенезу полісахаридів клітинної оболонки. Крім впливу на баланс пектинів, нестача бору впливає (на транскрипційному рівні) і на ген целюлозосинтетази (*CSLB5*) (Camacho-Cristybal et al., 2008).

Допускають, що бор, зв'язуючись із двома карбоксильними групами в цис-конфігурації, змінює структуру оболонки, знижує вміст NADPH шляхом зв'язування АТФ із частиною рибози. Бор, зв'язуючись із рибозою, як вільним цукром, чи із РНК, призводить до порушень клітинного ділення та розвитку рослини (Reid et al., 2004). Крім того, встановлено, що великі концентрації бору (5 мМ) призводять до збільшення вмісту лігніну та посилення активності пероксидази й сирингалдазин-пероксидази в проростках сої (Ghanati et al., 2005).

Цинк. Катіон цинку викликає зміни в генезисі лігніну оболонок. Такі зміни залежать від концентрації цинку в ґрунті та від виду. Показано, що висока концентрація цинку викликала в *Arabidopsis thaliana* та *Thlaspi caerulescens* активацію експресії генів, пов'язаних із синтезом лігніну (van de Mortel et al., 2006). Проте в *T. caerulescens* активація генів була вищою, це стосувалося й генів, які також пов'язані з дією посухи (*4CL*, *CCR*, *F5H*, *CAD*, *CCoAOMT*).

Вивчаючи акумуляцію цинку в клітинах *Fragmites australis* дослідники показали, що градієнт концентрації Zn у клітинах розподілявся таким чином: міжклітинники > клітинна оболонка > вакуоль > цитоплазма (Jiang, Wang, 2008).

Алюміній та кадмій. Алюміній є одним з основних інгібуючих іонів, який впливає на ріст рослини, що ростуть на кислих ґрунтах. Типовим симптомом Al-токсичності є інгібування росту коренів рослин (Tahara et al., 2005). У деяких видів рослин високі дози алюмінію інгібують ріст та посилюють лігніфікацію оболонок (Le Van et al., 1994; Budíková, 1999). Встановлено, що токсичність алюмінію призводить до руйнації цитоплазматичної мембрани внаслідок перекисного окислення ліпідів, що було досліджено на коренях сої (*Glycine max*) (Wissemeier, Horst, 1995). Є рослини, стійкі до дії алюмінію, наприклад, *Camellia sinensis*; ріст якої супроводжується зниженою активністю пероксидази та поліфенолоксидази оболонок (Ghanati et al., 2005). Показано, що алюміній викликає експресію генів, які кодують ферменти біосинтезу лігніну (*4CL*, *PAL*, *CAD* та *C3H*) (Chuanzao et al., 2004).

При низьких значеннях рН ґрунту (< 5,0) токсичні форми алюмінію вивільняються в ґрунт, що є загрозою для рослин. Al інгібує ріст кореневої системи, руйнує елементи цитоскелету (Kochian, 1995). Клітинна оболонка поглинає Al і накопичує його в клітинах (Horst et al., 2010). Особливо чутливі до дії алюмінію геміцелюлози та пектини клітинних оболонок (Chang et al., 1999), а також один із ферментів ксиланового метаболізму, а саме, ендотрансглюкозилгідролаза (XTHs). Дослідження впливу Al (100 та 150 мікромоль) на проростки *Arabidopsis thaliana* протягом 24 год показали як інгібування росту кореня на 46 %, так і накопичення алюмінію у фракції геміцелюлоз (Yang et al., 2011).

Кадмій – важкий метал, що викликає забруднення ґрунту, цей катіон може індукувати посилену лігніфікацію, зокрема, у коренях *Phragmites australis* (Ederli et al., 2004). Кадмій (від 0.2 мМ до 1 мМ) знижував ріст коренів сої та збільшував вміст лігніну (Bhuiyan et al., 2007), що супроводжувалося підвищенням експресії генів, зв'язаних із пероксидазою та лаказою (Bhuiyan et al., 2007).

Вивчення впливу кадмію в концентрації до 50 мікромоль на активацію пероксидази, що залучена в окислення численних органічних компонентів, подібних до поліфенолів, які входять до складу суберину та лігніну (Shhopfer 1996), показало посилення пероксидазної активності та окислення фенолів, а також інтенсифікацію синтезу лігніну в коренях (Schützendübel et al., 2001). Лін та Као (Lin, Kao, 2001) вважають, що лігніфікація оболонок відбувається для захисту коренів від стресу. Припускають, що токсичність кадмію знижується саме завдяки активації пероксидази та посиленню процесу лігніфікації оболонок (Hegedus et al., 2001).

Дослідження впливу кадмію на синтез целюлози в рису з використанням мутантного рису (*brittle culm13*), з мутацією субодиниці 9 у целюлозосинтезасі (*CESA9*) показало, що Cd⁺² абсорбується коренями й транспортується до стебла, листків та зернівок рису (Xue-Qin Song et al., 2013). Встановлено, що дія кадмію на мутант рису викликала зміну механічних характеристик стебел проростків, хоча за морфологією мутантні рослини не відрізнялися від контролю (дикого типу рису). Методом трансмісійної електронної мікро-

скопії встановлено незначне зниження товщини вторинних оболонок та зменшення на 22 % вмісту целюлози у мутантних проростках. У мутантних рослин також спостерігали змінену структуру судин. Автори зробили висновок, що мутація субодиноць целюлозо-синтетази призводить до зміни властивостей клітинної оболонки в провідних тканинах (Хуе-Qin Song et al., 2013).

Встановлено, що при надмірній концентрації кадмію у поживному середовищі, він накопичується у клітинних оболонках. Так, при дослідженні цитохімічними методами листків проростів *Salix viminalis*, що вирощували на середовищі із додаванням CdCl_2 (до 200 μM) встановлено, що у колєнхїмї провідних пучків кадмїї акумулювався в шарах оболонки, якї були збагаченї пектинами, крім того, цей катїон виявлено і в клітинних оболонках флоєми (Vollenweider et al., 2006). Кадмїї поглинається не тільки оболонками суходїльних рослин, але й оболонками водних рослин. Зокрема, це було виявлено у клітин *Elodea canadensis* (Nyquist, Greger, 2007).

Свинець. Відомо, що важкі метали є токсичними для рослин, оскільки вони впливають на швидкість росту й метаболїзму рослин. На клітинному рівні, вони інгїбують електронний транспорт у клітинї, зокрема, в оболонцї та цитоплазмї (Azmat, Haider, 2007), це стосується й іонів свинцю.

Пектин клітинних оболонок має високу здатність зв'язувати іони свинцю та мідї в дуже великих кількостях (Kopittke et al., 2008; Krzesłowska, 2011). Це було показано на клітинних оболонках протонеми моху *Funaria hygrometrica* (Krzesłowska et al., 2009). При дослідженні кореневих апексів *Populus tremula* x *P. tremuloides* та *Lemna trisulca*, що обробляли солями свинцю (PbCl_2) у концентрації 1000 μM протягом 4 годин та при обробцї $[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$ в меншїй концентрації (15 μM) протягом 12 годин виявлена присутність свинцю в клітинних оболонках досліджуваних об'єктів (Krzesłowska et al., 2011). У деяких клітинних оболонках водної рослини *Lemna sp.* виявленї значні потовщення, якї містили свинець. Встановлено, що рівень низько метилетерифікованого пектину у таких клітинних оболонках був досить високий, особливо, в периплазматичному просторї. Таким чином, досліджуванї рослини, накопичуючи свинець у пектинах оболонок, захищають клітини від дії токсичного металу.

Наявність важких металів, у тому числі, і свинцю в ґрунті навколо кореневої системи також може викликати синтез калози вже через 1 год. дії забруднення (Horst et al., 1997). Посилений синтез калози виявлено в клітинах *Lemna minor* (Samardakiewicz et al., 1996) та протонемї *Funaria hygrometrica* (Krzesłowska et al., 2009) у відповідь на наявність свинцю в середовищі. Подібний ефект описано й на культурних сільськогосподарських рослин та диких видах рослин при дії іонів алюмінію, зокрема: у *Glycine max* (Stass, Horst, 1995), *Zea mays* (Horst et al., 1997) та *Arabidopsis thaliana* (de Cnodder et al., 2005). З одного боку, калозні відклади захищають плазмалему й протопласт від проникнення металів і обмежують їхню кількість у протопластї (Krzesłowska, 2011), з іншого боку, відклади

калози в оболонці можуть стати інгібітором водного транспорту по симпласту кореня, що призводить до пригнічення його росту (Sivaguru et al., 2000). Відкладення калози в коренях може служити індикатором забруднення на важкі катіони. Вміст калози в оболонках коренів залежить від виду й дози токсичного металу. Індуктором синтезу калози стають метали в концентрації від 0,1 до 0,5 мМ, це стосується не тільки свинцю, але й інших металів, Ni^{2+} , Co^{2+} , Cr^{2+} , Mn^{2+} та Sr^{2+} ; та від 1 до 4 мМ - якщо це стосується Cd^{2+} та Al^{2+} (Wissemeier et al., 1992). Високі дози таких металів токсичні для рослини; вони можуть впливати й на гени калозосинтезазного комплексу (Bacic et al., 1988) або ж діяти, як еліситори (Collet et al., 2002).

Встановлено, що солі свинцю в ґрунті впливають на формування лігніну. Дослідники вивчали вплив $PbCl_2$ у концентраціях: 50, 100, 150, 200 та 250 мг/кг ґрунту протягом двох тижнів на проростки *Lens culinaris* та *Phaseolus mungo*. Встановлено, що катіони свинцю пригнічували ріст проростків (листіків та коренів). Спочатку вміст лігніну збільшувався. Але зміни вмісту лігніну залежали від виду, так у стеблі квасолі вміст лігніну збільшувався у чотири рази, а активність пероксидази – в 1,3 рази при концентрації свинцю 250 мг/кг ґрунту, тоді як у *L. culinaris* - навпаки відмічено менше вмісту лігніну та зниження активності пероксидази. Автори вважають, що у випадку підвищення вмісту лігніну, останній блокує дифузію важких металів по рослині, а також блокує й рух основних елементів живлення, що раніше було відмічено на інших видах (Azmat, Haider, 2007).

Кальцій. Кальцій не відноситься до важких іонів, проте надмірний його вміст чи нестача має суттєвий вплив на структурно-функціональну організацію клітинних оболонок. Дані про вплив іонів Ca^{2+} на лігніфікацію клітинних оболонок носять суперечний характер. Дія Ca^{2+} на біосинтез фенолпропаноїдів не зовсім зрозуміла. Ряд авторів вважають, що Ca^{2+} підвищує активність пероксидази та поліфенолоксидази (Castañeda, Pérez, 1996; Колупаев, Карпец, 2010); інші автори говорять про зниження вмісту фенольних речовин та активності пероксидази і поліфенолоксидази (Teixeira et al., 2006). Деякі автори ствержують, що Ca^{2+} зовсім не впливає на лігніфікацію оболонок (Tomas-Barberan et al., 1997). Встановлено, що іони кальцію, проникаючи в клітину можуть прискорювати синтез і відкладання калози (Wissemeier, Horst, 1995) шляхом активації калозосинтезази (Kauss, 1986).

У гібриду тополі (*Populus tremula* x *Populus tremuloides*), дефіцит Ca^{2+} викликав деформацію деревини, включаючи утворення судин килеми з невеликим діаметром, зниження їх висоти та зменшення як вмісту лігніну, так і монолігнінів (сирингілових складових) (Lautner et al., 2007). Вважають, що серединна пластинка першою насичується іонами Ca^{2+} , після чого в серединній пластинці починає відкладатися лігнін (Carpin et al., 2001).

Кремній. Недавно показано, що наявність у поживному середовищі Si^{2+} (у вигляді гелю) (30-40 мг/кг середовища) збільшує лігніфікацію та суберинізацію склеренхіми коренів рису, що супроводжується активацією генів, зв'язаних із ферментами біосинтезу лігніну та суберину, в результаті чого у таких коренів були знижені окисні процеси (Fleck et al., 2011).

Іони кремнію впливають на збільшення вмісту геміцелюлоз та лігніну в клітинних оболонках. Цей іон діє опосередковано: у клітинах підвищується фотосинтез, прискорюється ріст та збільшується механічна стійкість рослинних клітин. При дослідженні проростків орхідних (*Brassavola perrinii*) та гібриду (*Laeliacattleya* Culminant «Tuilerie» x *Laeliacattleya* Sons Atout Rotunda) x *Brassavola* sp. Startifire Moon Beach) на середовищі з додаванням CaSiO_3 (0; 0,5; 1,0 та 2,0 мгр/літр⁻¹) дослідники на рівні світлової мікроскопії показали, що антиклінальні оболонки продихів епідермальних клітин листків накопичували кремнієві тільця. Іони кремнію викликали також потовщення мезофілу та адаксіального епідермісу в листках (Soares et al., 2012).

Дослідження комплексного впливу катіонів кількох металів на ріст рослин показало, що тривала інтоксикація важкими металами призводить до морфолого-фізіологічних та генетичних аномалій. Вивчаючи дію важких металів протягом 30 діб ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – у концентраціях: 0,25; 0,50; 1,0 та 5,0 мг/кг ґрунту; $\text{CdSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – у концентраціях: 0,1; 0,2; 0,4 та 0,8 мг/кг ґрунту та PbNO_3 – 50; 100; 200 та 400 мг/кг ґрунту) на ферментативну активність каталази, вміст пігментів у хлоропластів у перших листків і стеблах, дослідники показали, що дія металів залежить від стадії росту рослини та концентрації металів. Найбільше впливають іони важких металів весною – коли рослини знаходяться у вегетативній фазі росту, при цьому відбувається оксидативне пошкодження. Встановлено, що досліджувані іони впливали на зниження товщини клітинних оболонок в епідермісі, провідних тканинах кори стебла і деяких тканинах листків (трахеях і фібрилах ксилеми). І чим більше була концентрація іонів металів, тим, тоншими ставали клітинні оболонки, особливо потоншувався шар кутикули в епідермісі листкових пластинок (Cvetanovska et al., 2010).

Дослідження впливу важких металів на рослини показало, що адаптація до іонів токсичних металів безпосередньо залежить від здатності різних тканин рослини акумулювати їх у клітинних оболонках (Philip et al., 2000). Так, при вивченні іоннообмінних характеристик клітинних оболонок (карбоксильних груп полігалактуронової кислоти та фенольних груп) сосни звичайної (*Pinus sylvestris*) різного життєвого стану (здорові та сильно ослаблені дерева) в умовах промислового забруднення показано, що досліджувані дерева відрізнялися різним вмістом карбоксильних груп в оболонках. В умовах забруднення, в клітинних оболонках тканин дерев збільшувався вміст карбоксильних груп, які зв'язували іони важких металів (мідь, нікель та сірку), в ослаблених деревах – було менше карбоксильних груп, і тому вони слабо зв'язували іони металів, у результаті чого іони важких металів проникали в протопласт, викликаючи зміни обміну речовин та зниження інтегральних показників функціонування клітин і тканин (Галибина, Терєбова, 2008).

Таким чином, підсумовуючи дані літератури про згубну дію важких металів на рослини та механізми їхнього пристосування до токсичної дії іонів металів, ми представляємо схему адаптаційної відповіді рослинної клітини на дію досліджуваного чинника і участі клітинних оболонок у цьому процесі (рис. 2.1.2.).

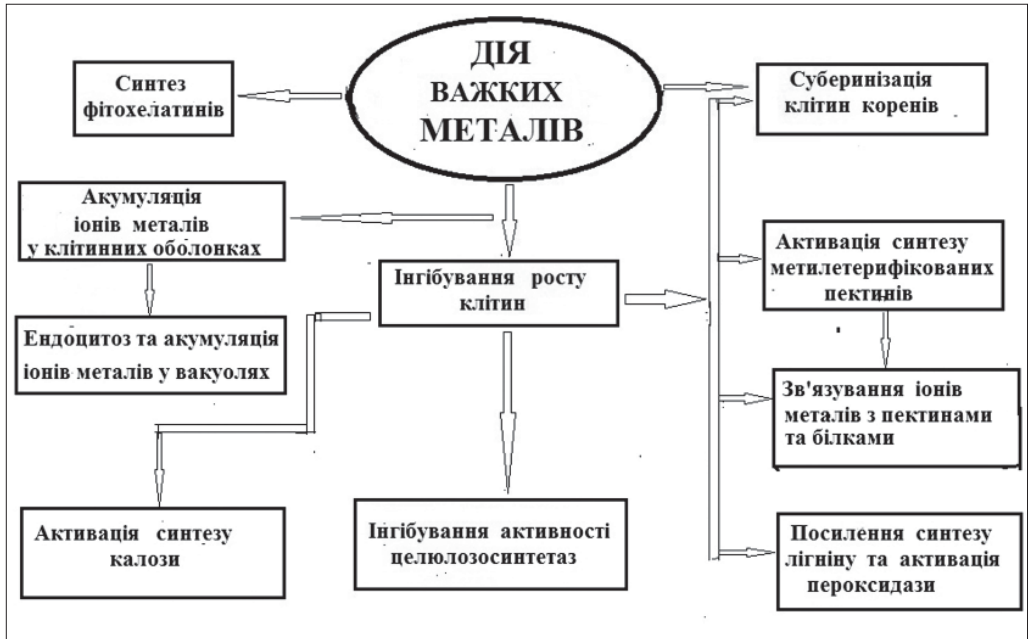


Рис. 2.1.2. Схема адаптаційної відповіді рослинної клітини на токсичну дію іонів важких металів і участі клітинних оболонок у цьому процесі

2.2. ДІЯ НИЗЬКОЇ ТЕМПЕРАТУРИ

Основними причинами, які викликають загибель рослин від холоду, є безпосередня дія низьких температур на клітини, що не пов'язана з утворенням льоду в тканинах або ж ззовні клітин. Холод – це тривала дія низьких температур, але не морозу. Низька температура має суттєвий вплив на ріст та розвиток сільськогосподарських культур, які можуть адаптуватися до цього фактору. Усі рослини за реакцією на дію холоду дослідники поділяють на три типи: 1 – чутливі до охолодження, 2 – стійкі до дії холоду та 3 – адаптовані до дії низьких температур (Thakur, Nayyar, 2013).

Рослини, що зимують в умовах помірного клімату, переносять замерзання значної кількості води на поверхні клітин. Якщо ж лід утворюється в клітині, тоді вона гине, так, як руйнуються мембрани, але такий процес відбувається дуже рідко й, то за умов, коли температура дуже швидко знижується (за 1 годину на 10-12°С). Як правило, початок формування кристалів льоду починається при дії температури від -1 до -3°С протягом однієї години. Повільне охолодження позаклітинної води, яка має нижчу концентрацію солей, ніж вода в протопласті, приводить до замерзання води ззовні клітини (Palta, 1990).

А так, як у звичайних умовах помірного клімату температура знижується на 1-2°С за одну годину, то утворення льоду відбувається ззовні клітини. При низьких температурах повітря й ґрунту ріст та розвиток рослин обмежений, це відбувається тому, що вода, яку адсорбує корінь, стає більш в'язкою й менш рухомою, а протоплазма клітин менш проникна. При температурі, яка нижче температури замерзання води, вода з рідкого стану перетворюється у твердий стан (лід), що й руйнує клітинні оболонки епідерми (Levitt 1980; Tahtiharju, 2002).

Передусім необхідно дати коротку характеристику води, що формує кристали льоду на поверхні епідерми рослин. Вода – це полярна, електростатична, здатна до зціплення рідина, що має характеристику буфера та термостабільної речовини. Рух води в рідкому чи замороженому стані обумовлений біполярною хімією диполів. Атоми водню мають невеликий позитивний заряд і діють як непарні негативно заряджені зони. Однакові пари електронів кисню в молекулі води несуть позитивний заряд і їх зв'язок із воднем носить назву водневий зв'язок. Усі речовини, що містять воду, характеризуються властивістю до зціплення за допомогою водневих зв'язків. Рідка вода є динамічною структурою, в якій водневі зв'язки постійно руйнуються або ж змінюються. Коли повітря сухе, то окремі водні молекули випаровуються, віддаючи енергію: оскільки водневі зв'язки руйнуються, то енергія використовується на перетворення води у пару, а якщо молекули води поглинають енергію, то знижується температура поверхні. При температурі нижче 0°С вода протидіє руйнації водневих зв'язків і її молекули зціплюються у гратчатоподібну асиметричну структуру асиметрію, і це вивільнює відкритий простір між зв'язаними частинами структури. Так утворюються кристали льоду, щільність яких відрізняється від щільності води.

На основі експериментальних робіт запропоновано схему передачі сигналів про охолодження, що включає наступні етапи (Vergnolle et al., 2005; Kim et al., 2009; Thakur, Nayyar, 2013):

- Сприйняття низької температури рослиною;
- Передача сигналу і активація біохімічних процесів за участю вторинних посередників, включаючи іони кальцію;
- Активація/деактивація кіназ та фосфатаз;
- Перенос сигналу до ядра та активація специфічних генів;
- Розвиток холодової адаптаційної реакції.

Перш ніж розглянути роль клітинних оболонок в адаптаційній реакції на холод, зупинимося на участі клітин у передачі сигналу про холодний стрес. Рецептори сприйняття холоду в рослинній клітині поки не визначені. Припускають, що сприйняття холодного сигналу відбувається шляхом його перетворення в кальцієвий сигнал, що призводить до збільшення вмісту цитоплазматичного Ca^{2+} , який і запускає подальші процеси: активуються кальцієві канали плазмалеми та тонопласту, а також Ca^{2+} -залежні ферменти (Miura, Furumoto, 2013). Зокрема, встановлено активацію кальцій-залежних та Ca^{2+} /фосфоліпід-залежних протеїнкіназ (CDPKs) (Cheng et al. 2002; Shimazaki et al. 1992; Nickel et al. 1991), а також Ca^{2+} -залежних протеїнфосфатаз (Tahtihari, 2002), що беруть участь у зміні метаболізму клітин та перебудові структури мембран.

Існує також думка, що сенсорами змін температури можуть виступати мікродомени цитоплазматичних мембран, які утворюються за екстремальних умов шляхом збільшення стеринів, що формують цупкі конгломерати з білками мембран, і таким чином, змінюють транспортні функції останніх та беруть участь у процесах фосфорилування/дефосфорилування складових цитоплазматичної мембрани (Murata, Los, 1997).

Дослідження структурно-функціональних особливостей рослин, які ростуть у Заполяр'ї, може дати відповідь на природні механізми адаптації рослинного світу до дії досить низьких температур. Відомо, що полярні рослини зростають на мерзломому ґрунті, який на різній глибині являє собою суцільну масу льоду. Весною лише невеликий шар ґрунту позбавляється льоду, який тане. По перше, для полярних рослин характерним феноменом є інгібування дихання на світлі, у листках вдень АТФ утворюється за рахунок фотодихання, і тільки вночі спостерігається темнове дихання. Це було показано на таких полярних видах, як *Betula nana* L., (карликова береза) та *Salix pulchra* (чайна лоза) (Heskel, 2013). Це свідчить про те, що дослідники, вивчаючи адаптаційні відповіді рослин на вплив морозів чи холоду, повинні враховувати й добову ритміку рослин, які ростуть на далекій півночі, чи за екстремальних умов похолодання.

При дії холоду дуже швидко відбуваються структурні зміни в цитоплазматичних мембранах, а саме перехід від ламелярної фази (фаза I) структури до гексоганальної (фаза II) за рахунок формування ліпідної асиметрії у мембрані (рис. 2.2.1, а) (Steponkus et al., 1993, a; 1993, b; Gomès et al. 2000; Nishawar et al., 2009). Показано, що за умов холодного стресу змінюється ліпідний склад плазмалеми, зокрема, індукується синтез триєнових жирних кислот (18:3 чи 16:3) (Routaboul et al. 2000). Завдяки насиченню мембрани ліпідами, зокрема, фос-

фатидиловою кислотою посилюється жорсткість мембрани вже в перші хвилини холодової експресії, як це було показано на клітинах культури *Arabidopsis thaliana* (Ruelland et al. 2002).

Подібні зміни в структурі мембран опосередковані активацією гену десатурази, що було встановлено на бактеріях (Wada et al., 1990). Це є однією з ранніх відповідей клітини на холододовий стрес.

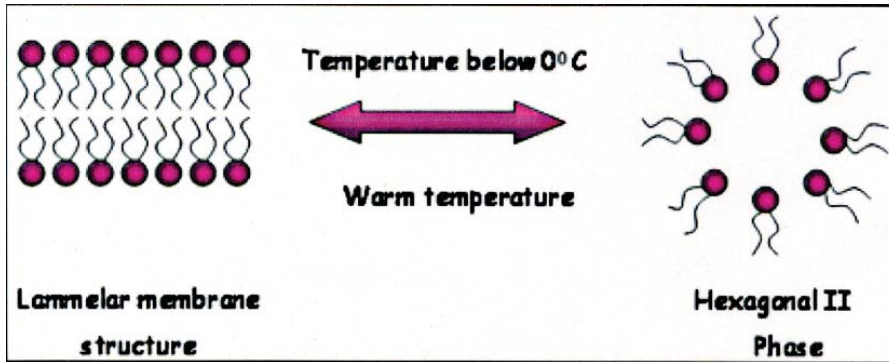


Рис. 2.2.1, а. Діаграма переходу цитоплазматичної мембрани рослинної клітини від ламелярної структури до гексагональної під дією холододового стресу (Stepankus et al., 1993, b; Nishawar et al., 2009)

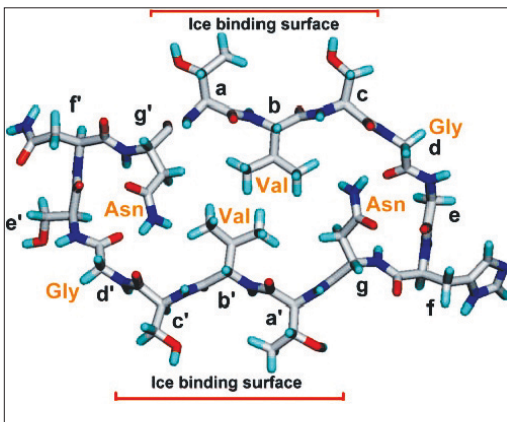


Рис. 2.2.1, б. Модель антифризового білка райграсу, до складу якого входять 118 залишків амінокислот. Цей білок містить дві консервативні ділянки із наступною послідовністю семи залишків амінокислот (Tyr, Tyr, Asp, Tyr, Val, Tyr, Gly), які зв'язуються із поверхнею кристалу льоду. Допускають, що така ділянка білка має гідрофобний валіновий центр та аспарагінові драбинки на кінцях згортки білка, і що саме ці дві кінцеві ділянки білка, які містять водневі зв'язки донор/акцептор, зв'язуються із зовнішньою поверхнею кристалів льоду (Graham et al., 2011).

При низьких температурах спостерігається зниження текучості мембран, зміни конформації білків, і це індукує відповідь на холод відповідних генів, що показано на люцерні, *Brassica napus*, а також на мутантах арабідопсису та диких рослинах цього виду (Sangwan et al., 2001; Chinnusamy et al., 2007). Встановлено, що за ригідність мембрани відповідає фермент діагліцеролкіназа (десатураза лінолевої кислоти), яка підвищує активність за умов холододового стресу. При зміні температури від $+18^{\circ}\text{C}$ до $+14^{\circ}\text{C}$ (для дикого типу арабідопсису) та до $+12^{\circ}\text{C}$ (для мутантів арабідопсису) спостерігали активацію експресії лінолевої десатурази (Vaultier et al., 2006). Ці зміни відбуваються на пост-транскрипційному та пост-трансляційному рівнях. Отримані дані свідчать про те, що рослини чутливі до холоду саме завдяки вияву ригідності цитоплазматичної мембрани при холододовому стресі.

Крім того, активується робота рецепторів зміни осмотичного тиску (білка ROP10, repressor of primer), мембранних білків (NtC7, new type of transmembrane protein that belongs to the receptor-like protein family) та ін. (Thakur, Nayyar, 2013). Автори припускають, що саме такі білки також можуть бути первинними сенсорами сприйняття холоду клітиною. Холодовий стрес також збільшує активність механо-чутливих або ж ліганд-чутливих кальцієвих каналів, у результаті чого збільшується вміст кальцію в ядрі та цитоплазмі. Кальцієвий сигнал також посилює фосфоліпідну сигналізацію, що залучена до відповіді на холодний стрес (Vergnolle et al., 2005). Крім цього, при охолодженні в цитоплазмі спостерігається й деполімеризація елементів цитоскелету (мікротрубочок та мікрофіламентів) (Rokorna et al., 2004). Таким чином, за дії холоду відбувається модифікація компонентів сигналізації. Якщо пізнати шляхи холодової сигналізації, то можна підвищити адаптацію рослин до цього стресу.

Білки та гени холодового шоку. За умов екстремальної дії зниженої температури в клітинах синтезуються стресові білки, які відносять до родини десатураз та дегідринів, а також синтезуються білки холодового шоку (БХШ). Ці гідрофільні білки виділяються в клітинну оболонку епідермальних тканин і розміщуються на поверхні кристалів льоду, інгібуючи їх подальший ріст (Griffith et al., 2005; Yu et al., 2010). Білки холодового шоку роз'єднують окисне фосфорилування, що дозволяє рослині використовувати енергію окислення на підвищення температури клітин органів на 4-7°С вище температури оточуючого повітря. Антифризові білки різноманітні за структурою, розміром, типом; вони мають здатність адсорбуватися на поверхні кристалічної ґратки льоду за допомогою водневих зв'язків. Зв'язування відбувається між молекулами води та гідрофільними ділянками ланцюгів певних амінокислот білка (рис. 2.2.1, б) або ж на залишках вуглеводу в глікопротеїнах. Антифризові білки не запобігають утворення льоду, але вони налипають на поверхню граней кристалів, проникаючи в міжвузля ґратки кристалу, створюючи додаткове напруження в кристалі льоду. Таким чином, білки руйнують ріст кристалів, які не спроможні формувати великі гексагональні біпірамідальні структури (рис. 2.2.2). Наявність цих білків викликає термальне запізнення (гістерезис) зниження точки замерзання (Storey, Storey, 2005).

Недавно були ізольовані гени, що відповідають за синтез БХШ, синтез яких дозволяє переносити низькі температури (Roitsch et al., 2003; Попов и др., 2013). Молекулярні дослідження на модельній рослині *Arabidopsis thaliana* показали, що перенесення рослин із камер, де температура була +25°С в камеру з температурою -1°С чи -2°С на одну годину, викликає експресію генів холодового шоку (*AtGRP2-At4g38680*, *AtGRP2b*, *At2g21060*, *At2g17870* та *At4g36020*) та синтез відповідних білків (Kim, et al., 2009; Karlson, Imai, 2003). Цими дослідниками показано, що домени БХШ за амінокислотною послідовністю подібні до таких у *Escherichia coli*. Домени БХШ були ідентифіковані у 19 родин, включаючи нижчі рослини, однодольні, дводольні та численні види дерев. Крім цього, авторами показано, що БХШ експресуються в апікальних зонах коренів та пагонів, тобто ці білки є тканиноспецифічними і діють як РНК шаперони (Karlson, Imai, 2003; Kim, et al., 2009).

Дослідження тримірної структури доменів БХШ у рослин показало, що такі домени, збагачені лейцином, містять два типи модулів, зв'язуючих нуклеїнові кислоти: перший – має єдиний N-термінальний домен холододового шоку, другий тип модулів характеризується розміщенням на С-кінці ретровірусоподібних зон (так звані «цинкові пальці»), збагачених гліцином (рис. 2.2.3) (Karlson, Imai, 2003; Chaikam, Karlson, 2010).

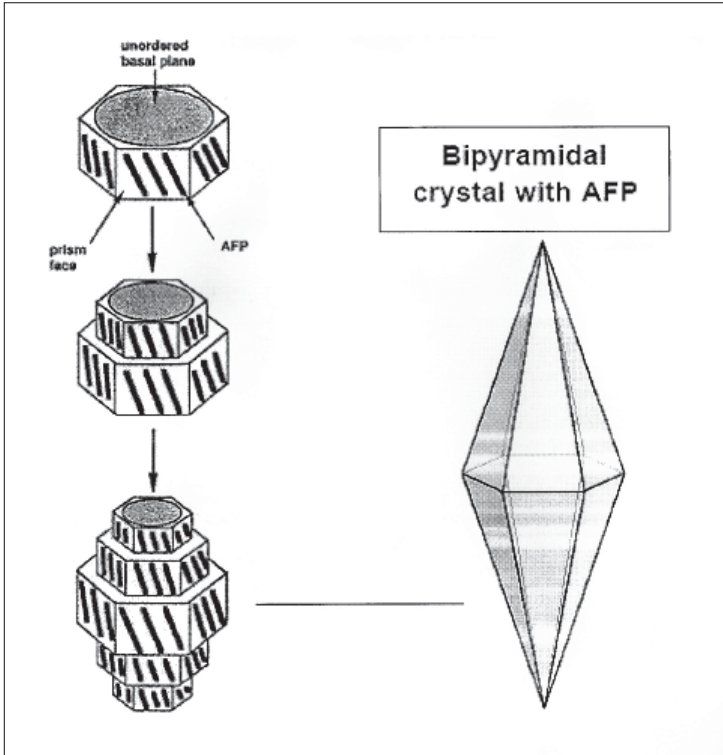


Рис. 2.2.2. Схема взаємодії антифризового «рибного» білка (**AFP**) із льдом. Антифризовий білок зв'язується із гранню формуючої ґратки кристала льоду (верхній рисунок зліва), утримуючи подальший ріст у цій площині. Ріст кристала продовжується в базовій площині, але зв'язок білків із новими гранями кристалів створює біпірамідальний кристал льоду (Storey, Storey, 2005)

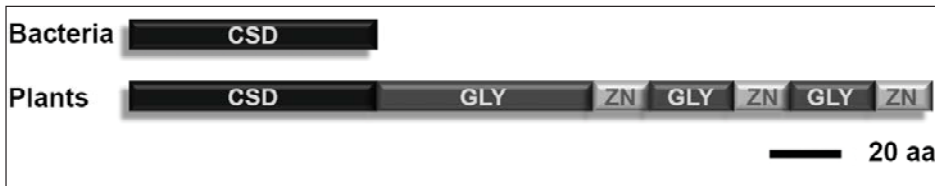


Рис. 2.2.3. Порівняння структури домену білків холододового шоку (БХШ) у бактерій та в рослини. Бактеріальний БХШ включає домен холододового шоку (CSD), тоді як домен білка рослинного холододового шоку (CSD) містить на N-кінці гліцинзагачені зони (GLY), які розміщені між «цинковими пальцями» (zinc fingers, ZN) (Karlson, Imai, 2003)

Антифризові білки (AFP, anti-freeze proteins) можуть модифікувати процес замерзання води, що описано в багатьох організмах (Davies et al., 2002). І це є важливим фактором адаптації до дії морозу. Антифризові білки ділять на дві групи в залежності від їхньої функції:

- 1) Антифризові білки (AFPs), що діють на замерзання води (термальний гістерезис, тобто термальне відставання процесу);
- 2) Інгібуючі білки (IRIP, ice re-crystallization inhibition proteins, IRIP), що рекристалізують лід.

Саме другий тип білків (IRIP) вважається важливим для рослин (Griffith et al., 2005). Рекристалізація льоду – це процес, коли кристали льоду не ростуть до великих розмірів, такі кристали льоду при зв'язуванні з білками IRIP перетворюються на маленькі кристали, і їх подальша кристалізація відбувається значно скоріше, ніж формування великих кристалів. Таким чином, контролюється ріст кристалів льоду на поверхні епідермісу органів, що захищає рослину від фізичного руйнування при формування кристалів у апопласті (рис. 2.2.4).

Перше повідомлення про білки, що зв'язані з формуванням льоду в рослин стосувалися експериментів з житом (*S. cereale*) (Griffith, Brown, 1992). У кормових трав також виявлено зв'язок взаємодії білка із льодом (Sidebottom et al. 2000). Останні автори відкрили транскрипт холодо-індукованої мРНК, що кодує частково IRIP білок, який інгібує рекристалізацію льоду у рослині *L. perenne* (*LpAFP, AJ277399*). Кілька гомологів цього білка були ізольовані з кормових трав, які відносяться до специфічної родини білків у *Pooideae* (John et al., 2009; Tremblay et al., 2005; Sandve et al., 2008). Моделювання білка при вивченні його функції показує, що такий білок утворює повторність NxVxG/NxVxxG, формуючи β -рулон із β -обгорткою поверхні, яка зв'язується із льодом і відповідає за інгібування його рекристалізації в умовах *in vitro* (John et al., 2009; Middleton et al., 2009).

Синтетичні білки AFPs холододового шоку також показують підвищення стійкості до замерзання. Недавно встановлено, що під час заморозків у рослин арабідопсису спостерігається експресія генів білка IRIP із наступним підвищенням стабільності клітинної мембрани та проявами стійкості до заморозків у досліджуваних рослин (Zhang et al., 2010). Це повідомлення підтримує думку, що гени IRIP є важливими для виживання рослини в умовах заморозків або в умовах холодного клімату.

Відомо, що акліматизація до холоду включає генну експресію, зв'язану з фізіологічними та біохімічними змінами. Так у *Arabidopsis thaliana* при холододовій акліматизації знайдено 3379 генів та безліч транскрипційних факторів (Hannah et al., 2005). При нульовій температурі в ряда рослин відбуваються обезводнення клітин та утворення кристалів льоду (Steponkus et al., 1993, a; 1993, b), у інших видів – утворюються реактивні форми кисню (Suzuki, Mittler, 2006), змінюється накопичення цукрів, амінокислот й антизаморожуючих компонентів (Atici, Nalbantoglu, 2003).

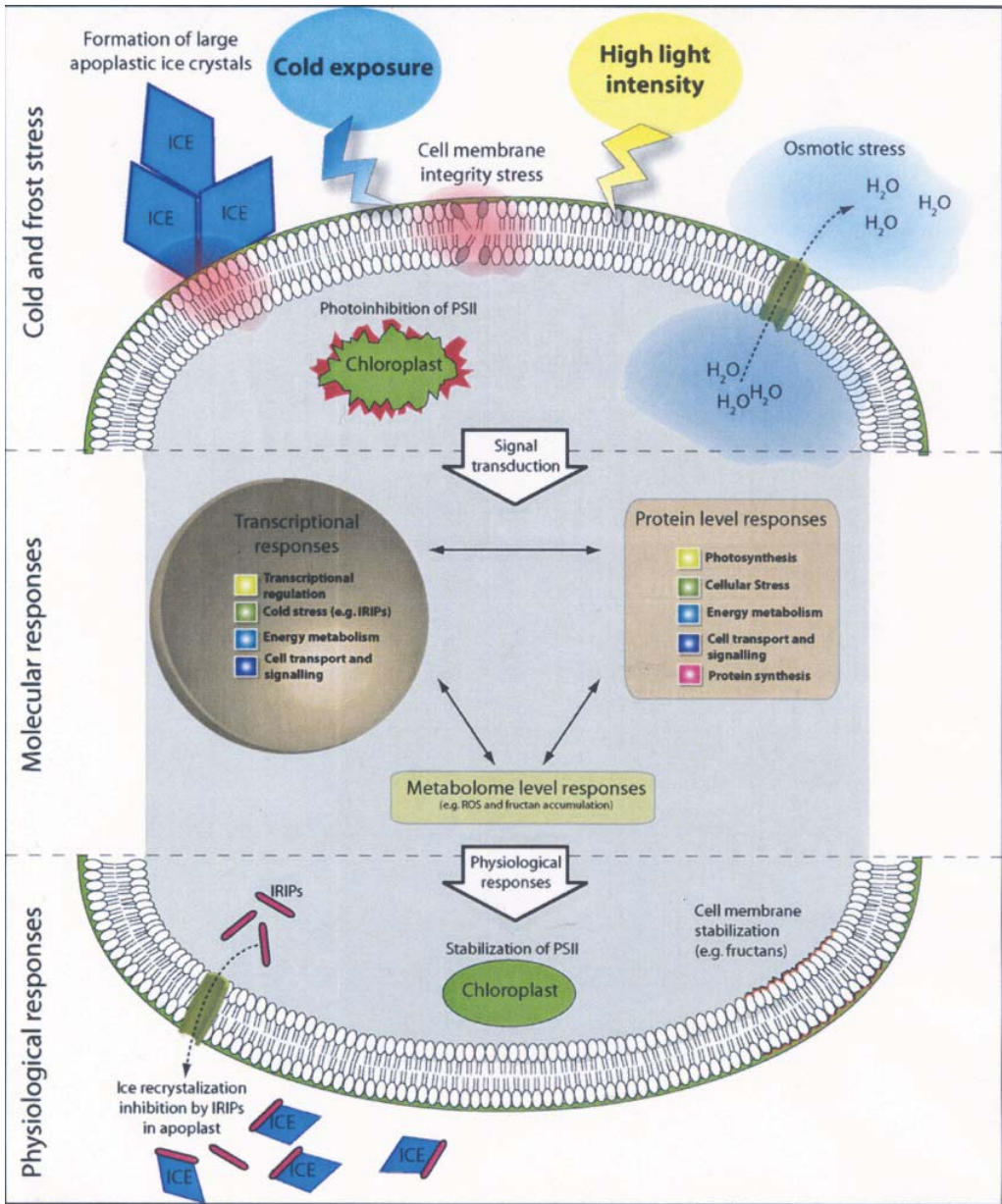


Fig. 2.2.4. Схематична модель молекулярних механізмів стійкості багаторічних трав в умовах заморозків (Sandvea et al., 2011).

На верхній частині рисунку подано події, які відбуваються при холодovому стресі та заморозках: це формування льоду в апопласті, що може привести до прямого фізичного пошкодження цитоплазматичної мембрани, при цьому спостерігається й осмотичний стрес, при якому вода, що виходить із протопласту, також утворює на поверхні клітинної оболонки кристали льоду, що ростуть. Комбінація високої інтенсивності освітлення з низькою температурою восени та в зимку приводить до фотоінгібування хлоропластів.

У середній частині рисунку подано молекулярну відповідь на холодоровий стрес восени та на початку зими, коли відбувається генна експресія багатьох білків із подальшою регуляцією на транскрипційному рівні та на рівні сигналізації (CBFs) енергетичних змін та модифікації фотосинтезу, а також змін білків чи ферментів, які стабілізують структуру цитоплазматичної мембрани за участю IRIPs та фруктозилтрансфераз.

На нижній частині рисунку подано фізіологічну відповідь для запобігання деструктивним процесам у клітині при холодоровому стресі та при заморозках, що є надійним механізмом для збереження трав в умовах холодної зими

Роль фруктану. Значну роль у розвитку адаптації та стійкості рослин до дії заморозків чи тривалого зниження температури відіграють цукри, зокрема, фруктан. Фруктан – це розчиний фруктозилполісахарид, який походить від сахарози, що використовується як запасний полісахарид (до 15 %) у квіткових рослин, у тому числі в злакових та кормових травах (Hendry, 1987; 1993). Відомо, що фруктани накопичуються в травах при дії низьких температур як у природних умовах, так і при вирощуванні в лабораторних умовах (Hisano et al., 2008; Pollock, Jones, 1979). Хоча дані про роль фруктанів в умовах заморозків суперечливі (Hendry, 1993). Ряд дослідників вважають, що фруктан кормових трав забезпечує адаптаційну відповідь рослини на дію заморозків чи холодорового стресу (Livingston et al., 2009). Як фруктан допомагає збільшувати стійкість рослини до морозів? Ми припускаємо, що фруктан володіє властивостями кріопротекторів, які перешкоджають формуванню кристалів льоду за рахунок утворення водневих зв'язків із молекулами води.

Вивчення фруктанів показало, що цей цукор синтезується за допомогою 4 ферментів фруктозилтрансферази (transferase, FST). Останній етап синтезу фруктану – це перетворення двох молекул сахарози у молекулу фруктану за допомогою 1-цукрозо-цукрозо-фруктозилтрансферази (1-SST). Подальша ж полімеризація відбувається за допомогою інших трансфераз, зокрема: фруктан-1-фруктозилтрансферази (1-FFT), фруктан-6-G-фруктозилтрансферази (6G-FFT), та сахарозо: фруктан-6-фруктозилтрансферази (6-SFT), в результаті чого утворюється п'ять можливих типів цукрів фруктану (Livingston et al., 2009). Кілька досліджень на травах показали, що експресія гену FST виявляється саме при знижених температурах (Kawakami, Yoshida, 2002; Zhang, et al., 2010). Хісано та співавтор. (Hisano et al., 2008) досліджували ці гени при холодоровій акліматизації в *Lactuca perenne*. Встановлено, що при перенесенні рослин в умови холоду експресія цих генів відбувається швидко й, таким чином, спостерігається подовження молекул фруктану. Це було підтверджено й іншими дослідниками (Chalmers et al., 2005). Пряма функціональна роль фруктанів при дії холоду та за умов холодорової акліматизації полягає в тому, що цей цукор підвищує стабілізацію мембранної структури при заморозках (Vereyken et al., 2001; de Viso et al., 2009). Піонерськими роботами на мутантних рослинах показано, що фруктани стабілізують мембрану клітини в умовах заморозків (в умовах *in vivo*). Хісано та ін. (Hisano et al., 2004), використовуючи трансгенні рослини *L. perenne*, встановили,

що при збільшенні синтезу фруктану знижується електролітична прохідність мембрани та зменшується її руйнування (Li et al., 2007), це також було показано й на рослинах тютюну (Parvanova et al., 2004).

Клітинні оболонки. Замерзання води із зовнішньої сторони клітини запобігає утворенню кристалів льоду в протопласті, але призводить до обезводнення макромолекулярних структур клітини за рахунок посилення відтоку води із клітини через плазмалему, в якій змінюється склад фосфоліпідів; вода виходить у міжклітинники, протопласт сильно обезводнюється (Steponkus et al., 1993, a; 1993, b), і саме такі події призводять до зменшення об'єму та деформації клітини, а також до змін механічних властивостей клітинних оболонок (Pearce, 1988; Pearce, Ashworth, 1992).

Є й протилежні дані, коли проявляється стійкість клітин до замерзання, за таких умов у клітині створюється негативний тиск (Rajashekar, Burke, 1982; Zhu, Beck, 1991), і саме стійкість клітин до замерзання може призводити до зниження обезводнення клітини (Levitt, 1980), але це у свою чергу призводить до формування заглибин у клітині. Під час такої деформації структура клітинних оболонок може змінюватися.

Раджашекар та Лафта вивчали зміни в клітинних оболонках суспензійних культур клітин *Vitis* sp. та *Malus domestica* при дії холоду (-2°C та $+4^{\circ}\text{C}$) протягом 3-5 тижнів і показали, що тиск у середині клітини змінюється. Щодо структури клітинних оболонок, то при екстремальних діях низьких температур відмічено зменшення кількості та розміру пор у оболонках епідермісу суспензійних клітин, розмір яких при оптимальних температурних умовах становив 29-35 Å (Rajashekar, Lafta, 1996).

Відомо, що холодова акліматизація викликає різні модифікації в структурі оболонок, вмісті та складі полісахаридів: клітинні оболонки потовщуються, в них змінюється швидкість синтезу целюлози, розчинних полісахаридів та пектинів, починає синтезуватися калоза (Wallner et al., 1986; Kubacka-Zebalska, Casperska, 1989; Tao et al., 1983). Крім того, є повідомлення про відкладення кремнію в клітинних оболонках листків пальми за дії холоду (Larcher et al., 1991).

Ретельні дослідження клітинних оболонок листків 3-тижневих проростків олійного рапсу, акліматизованих та неакліматизованих до дії холоду ($+2^{\circ}\text{C}$ та $+5^{\circ}\text{C}$) протягом трьох тижнів, показали суттєві зміни у вмісті основних полісахаридів (Kubacka-Zebalska, Casperska, 1989). У рослин акліматизованих до холоду виявлено збільшення загального вмісту полісахаридів в оболонках в 1,3 раза та вмісту пектинів – в 1,7 раза в порівнянні з такими в неакліматизованих рослин. Вміст пектинів у листках акліматизованих рослин становив $40,9 \text{ мг}/100 \text{ мг}^{-1}$ клітинних оболонок та $23,7 \text{ мг}/100 \text{ мг}^{-1}$ – у неакліматизованих рослин відповідно. Відмінності також проявлялись й у вмісті окремих цукрів з фракції пектинів (рис. 2.2.5).

Вміст окремих цукрів у фракції геміцелюлоз також відрізнявся у акліматизованих до холоду рослин (рис. 2.2.6). Не дивлячись на зміни у вмісті пектинів та геміцелюлоз, вміст целюлози достовірно не відрізнявся в акліматизованих та не акліматизованих рослинах.

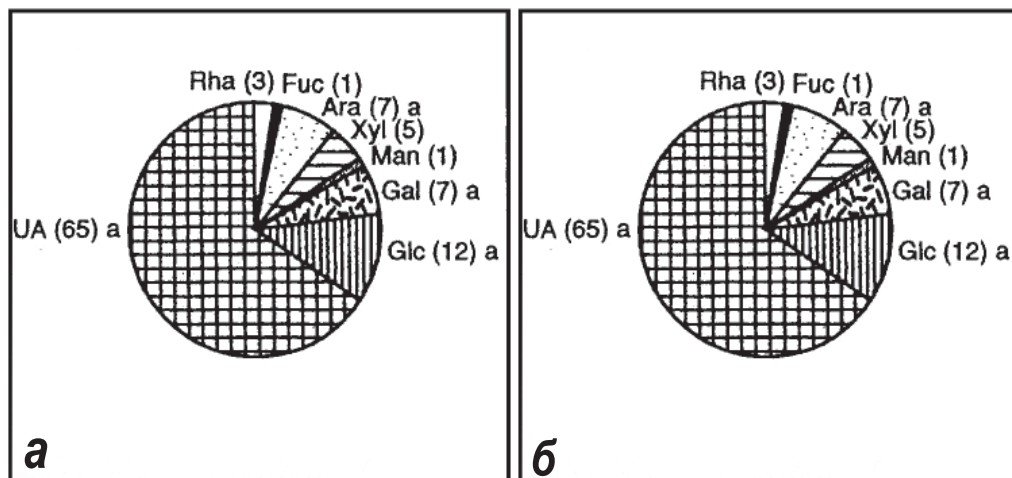


Рис. 2.2.5. Вміст цукрів у фракції пектинів, виділеної із листків олійного рапса у неакліматизованих до холоду рослин (**а**) та у акліматизованих рослин (**б**). Вміст цукрів подано в дужках в $\text{мг}/100 \text{мг}^{-1}$ пектину. Позначення цукрів: UA – уронові кислоти, Rha – рамноза, Fuc – фукоза, Ara – арабіноза, Xyl – ксилоза, Man – маноза, Gal – галактоза, Glc – глюкоза (Kubacka-Zebalska, Kasperska, 1999)

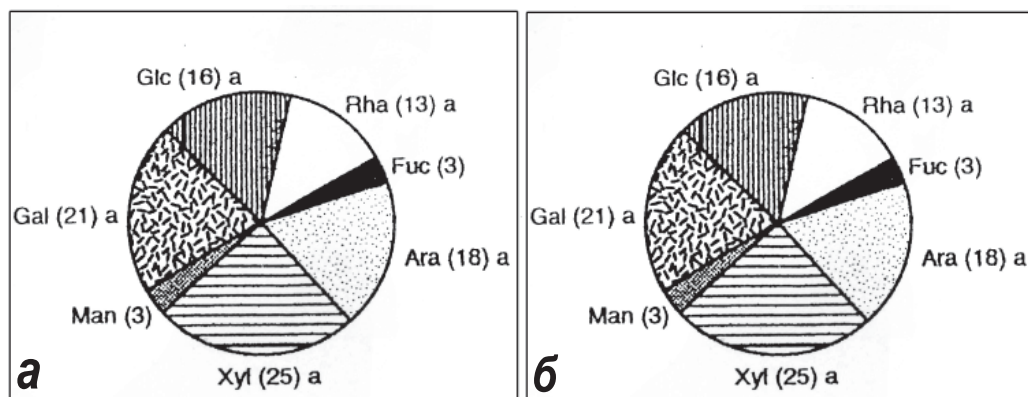


Рис. 2.2.6. Вміст цукрів у фракції геміцелюлоз, виділеної із листків олійного рапсу неакліматизованих до холоду рослин (**а**) та у акліматизованих рослин (**б**). Вміст цукрів подано в дужках в $\text{мг}/100 \text{мг}^{-1}$ геміцелюлоз. Позначення цукрів: Rha – рамноза, Fuc – фукоза, Ara – арабіноза, Xyl – ксилоза, Man – маноза, Gal – галактоза, Glc – глюкоза (Kubacka-Zebalska, Kasperska, 1999)

Отримані результати свідчать про те, що в акліматизованих рослин клітинні оболонки листків здатні зв'язувати воду з пектинами, що важливо за умов клітинного обезводнення при дії холоду. В акліматизованих рослин відношення нейтральних цукрів до уонових кислот підвищувалося зі збільшенням вмісту арабінози та галактози (2:5) і це може вказувати, що акліматизація рослин до холоду є результатом укорочення галактанових ланцюгів у пектинах. Автори припускають, що збільшення вмісту глюкози у фракції пектинів може бути результатом лізису крохмалю (Kubacka-Zebalska, Casperska, 1989). У складі геміцелюлоз дослідниками відмічено зниження ксилози та глюкози. Це є підтвердженням припущення про можливість розтягу клітин в умовах холоду, що приводить до стрес-релаксації (Cosgrove, 1997).

Подібні зміни відмічені й іншими дослідниками за умов адаптації рослин до осмотичного та водного стресів (Iraki, 1989, a; 1989, b; Zwiazek, 1991). Але при осмотичному стресі не відмічено змін загального вмісту пектинів, проте збільшується вміст геміцелюлоз, що веде до підвищення ригідності клітинних оболонок та інгібування росту клітин (Iraki, 1989, b; Munoz et al., 1993).

Дослідження впливу холоду на рослини рапсу проводяться постійно в різних лабораторіях. Незалежно від тривалості дії холоду, рослини цього виду дуже чутливі й проявляють певну закономірність адаптації на рівні змін полісахаридів клітинних оболонок. Так Солецка зі співавторами показали, що холододивний вплив викликав клітинні адаптаційні модифікації: підвищення листкової жорсткості, що було пов'язано зі збільшенням вмісту пектину та активності пектинметилестерази, PME (Solecka et al., 2008). У результаті активації цього ферменту в клітинах збільшувався вміст деетерифікованих пектинів, у яких численні вільні карбоксильні групи зв'язують іони кальцію, що робить матрикс оболонок більш цупким і допомагає рослині перенести вплив заморозків.

Дослідження на структурному рівні тканин вегетативних та генеративних тканин у видів *Cerastium arcticum*, *Colobanthus quitensis*, *Silene involucrate* (із родини Caryophyllaceae), а також кілька видів із родини Poaceae: *Deschampsia antarctica*, *Poa annua* та *Poa arctica*, що зростають у районах із холодним кліматом, показало, що клітини листків мали досить маленькі розміри, мезофіл за анатомічною структурою нагадував типову аеренхіму. Що стосується клітинних оболонок тканин листових пластинок, то вони були дуже тонкими (Gielwanowska et al., 2011).

Стійкість клітинних оболонок до заморозків визначає захист протопласту від формування льоду. І як результат, рослина росте на холоді, при цьому відбуваються зміни в структурі листка та товщині клітинних оболонок (Chen, Gunighara, 1977; Rajashekar, Laffa, 1996; Griffith, Brown, 1982).

Лігнін. Щодо лігніну, то відомо, що в природних умовах незначне зниження температури до 10° С не впливає на лігніфікацію рослин. Це було показано при дослідженнях проростків *Populus tremula* x *P. tremuloides* L. cv. Muhs. Проте, в умовах *in vitro* в проростках

тополі виявлено збільшення вмісту лігніну (Hausman et al., 2000). В однодольних зі зниженням температури повітря також спостерігалось збільшення вмісту лігніну, целюлози та геміцелюлоз (Ford et al., 1979).

У *Brassica napus*, що росли три тижні при +2° С, а потім при -5° С протягом 18 годин, змін у вмісті лігніну не виявлено (Solecka, Casperska, 1995), проте спостерігалось збільшення вмісту кумарової, ферулової та синапової кислот у мезофілі, що, можливо, зв'язано зі збільшенням активності фенілаланінамонійліази. У коренях проростків, *Glycine max* при акліматизації до 10° С спостерігали збільшення етерифікованих форм ферулової, сиригінлової та гідроксibenзойної кислот (Janas et al., 2000).

Встановлено, що рівень лігніну та розчинних фенолів у листках та коренях *Triticum aestivum* при 2° С змінювався, а саме спостерігали зниження вмісту лігніну в коренях, а в листках - лише збільшення розчинних фенолів (Olenichenko, Zagoskina, 2005).

Таким чином, низька температура часто не впливала на вміст лігніну чи його попередників, хоча відмічені зміни активності ферментів та збільшення експресії генів, що кодують С3Н білок та Р450-залежну монооксидазу. Як відомо, фермент С3Н (кумарат-3-монооксигеназа) лімітує швидкість синтезу монолігнінів, а цитохром Р450-залежна монооксидаза залучена до біосинтезу фенілпропаноїдів та лігніну (El Kayal et al., 2006). Ці автори вважають, що ріст експресії С3Н білка є причиною змін складу лігніну та жорсткості оболонки. Можна припустити, що суттєве значення для адаптаційних перебудов має не зміна вмісту лігніну, а саме його складових (монолігнінів), від співвідношення яких і залежить цупкість та механічні властивості клітинних оболонок (див. 1 розділ книги, п/розділ «ЛІГНІН»).

Ферменти. Дослідження низькотемпературного загартування рослин теплолюбного тютюну (*Nicotiana tabacum* L.) протягом 6 діб при +8° С показало, що адаптація до зниження температури супроводжувалася підвищенням в 1,5 раза активності апопластної інвертази в листках, та її зниженням майже удвічі - у коренях (Попов и др., 2013). Відомо, що апопластна інвертаза є ключовим ферментом, який бере участь у розгрузці цукрів флоєми, розщеплюючи сахарозу до моноцукрів і сприяючи їх швидкому використанню в метаболізмі (Roitsch et al., 2003). Підвищення активності інвертази клітинних оболонок у листках тютюну призводило до гальмування відтоку асимілятів із листків у корені та було направлено на формування підвищеної холодостійкості лише надземних органів.

Підсумовуючи дані літератури щодо дії зниженої температури та заморозків на клітинні оболонки, ми можемо схематично (рис. 2.2.7) представити основні шляхи змін у клітинних оболонках, які беруть участь в адаптації рослини до такого стресу.

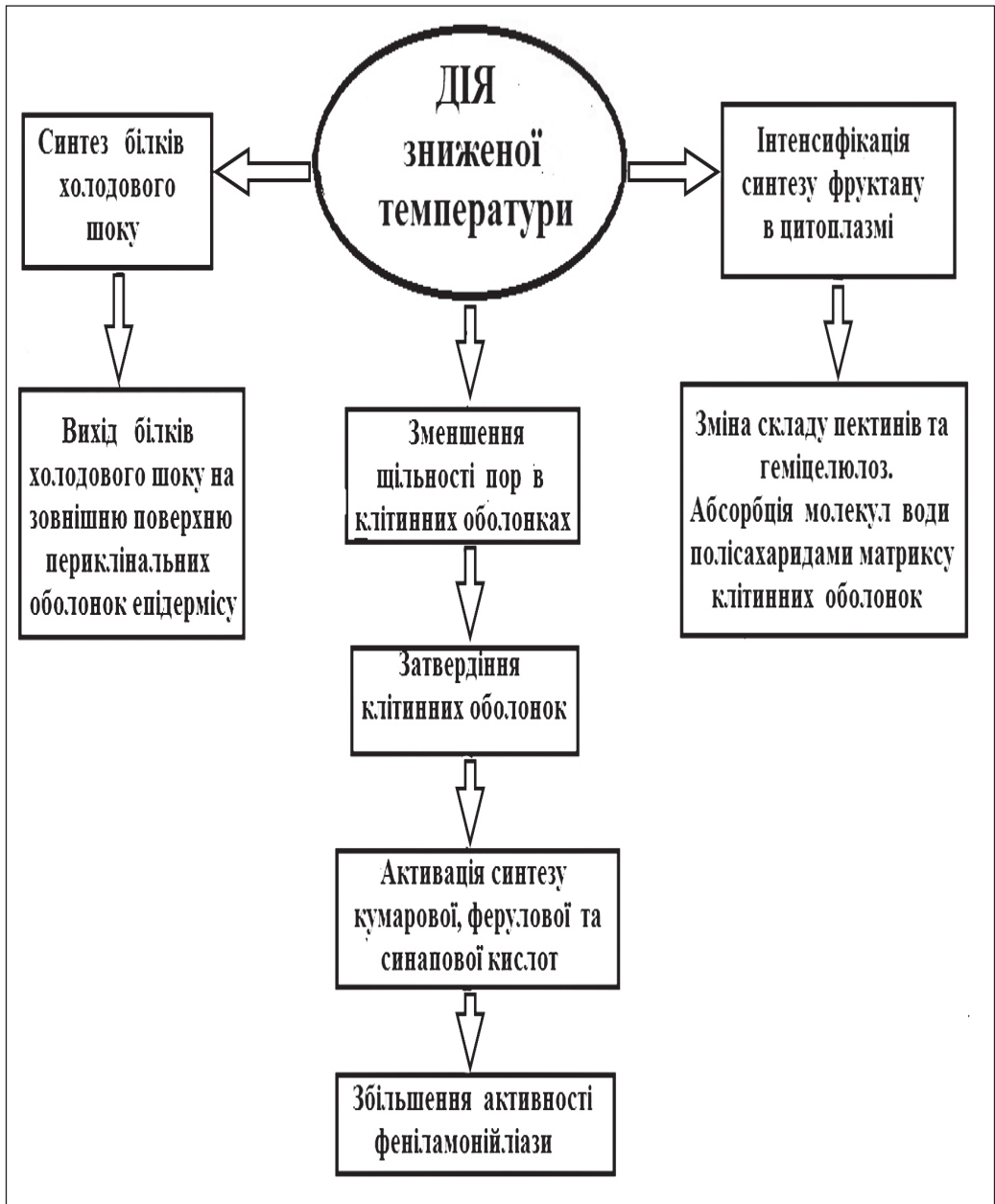


Рис. 2.2.7. Схема основних структурно-метаболических змін апопласту рослинної клітини при дії зниженої температури чи заморозків.

2.3. ПОСУХА

Посуха є природним стресом, що виникає за умов дефіциту води в ґрунті, а також за умов тривалої дії суховіїв, що впливає на ріст та розвиток рослини. Стрес при посусі розглядається як стан, при якому водний потенціал та тургор знижені, хоча рослина може нормально функціонувати. Водний стрес розглядається як втрата рослиною води, що веде до закриття продихів та обмеження газового обміну. Підсихання рослин - це більш інтенсивна втрата води, що призводить до порушення метаболізму рослини, клітинної структури й навіть активації каталітичних ферментативних реакцій. Водний стрес характеризує також зниження загального водного потенціалу, і як результат рослина в'яне на фоні зупинки чи інгібування процесу фотосинтезу та порушення метаболізму, які можуть привести навіть до загибелі клітин (Shao et al., 2008).

Посуха може бути хронічною або тимчасовою. Останнє спостерігається при швидкій непрогнозованій зміні погоди. Помірна посуха – це явище, при якому рослина починає відчувати вплив посухи. За таких умов рослини виробили стратегію специфічної акліматизації та адаптаційні механізми у відповідь на короточасну чи тривалу дію фактора. Аналіз комплексних відповідей на посуху, починаючи, від сприйняття цього стресу до структурних, фізіологічних та молекулярних відповідей залучує численні взаємозв'язані процеси (Krishnan, Pereira, 2008). Головне завдання рослинних клітин при посусі – це підтримання водного потенціалу в тканині при залученні механізмів зниження витрат води шляхом регуляції кутикулярної та продихової транспірації (Price et al., 2002). У шляхи сигналізації посухи залучені АБК, деякі гени та транскрипційні фактори (DRE-зв'язуючий білок, АБК-зв'язуючі білки та ін.) (Bartels, Sunkar, 2005; Harb et al., 2010).

Дія високих температур ($\leq 40^{\circ}\text{C}$) носить назву високотемпературного стресу, який індукує морфологічні, анатомічні, а також і фізіолого-біохімічні зміни в рослинах. Зокрема, за аналогією до помірної дії спеки, у листках відбувається закриття продихів, окрім того, досить швидко збільшується щільність трихом в епідермальних клітинах та кількість судин в ксилемі, активується синтез антиоксидантів для поглинання реактивних форм кисню, знижується фотоокислення у хлоропластах, відбуваються зміни в гормональному балансі та мембранній термостабільності (Somerville, Browse, 1991; Wise et al., 2004; Zhang et al., 2005; Жук, 2011; Waraich et al., 2012); в клітинах листків та коренів синтезуються білки теплового току (БТШ) (Косаковская, 2008; Козеко, 2010), які беруть участь в підтриманні структурної цілостності та регуляції білків.

Ростові процеси при посусі. Першою реакцією рослини на посуху є підтримання тургору та зниження транспірації (Neumann, 1995). Показано, що навіть при незначній посусі відбувається зниження швидкості росту листків та коренів, що було описано на модельному об'єкті *Arabidopsis thaliana* (Aguirrezabal et al., 2006; Horiguchi et al., 2006). Відомо, що

коренева система перша відчуває вплив водного стресу, згодом надземні органи (стебло та листки) дуже сильно реагують на такий стрес, інгібуючи свій ріст. Це відбувається, завдяки змінам та наявності при стресі низького водного потенціалу (Ψ_w) у коренях та стеблах (Leucci et al., 2008). Показано, що розмір надземних органів залежить від тривалості процесів ділення та розтягу клітин, при помірній посусі в листках арабідопсису низька швидкість подовжнього росту розтягом компенсується підвищеною швидкістю розширення зони розтягу (Aguirrezabal et al., 2006).

Вважають, що зміни ростових показників при посусі відбуваються в результаті зміни величини клітинного тургору та зниження площі транспірації листових пластинок. Поряд із такими процесами відбуваються зміни біохімічних та біофізичних характеристик клітинних оболонок, які відіграють певну роль у рості клітини (Mathews et al., 1984; Neumann, 1995).

Зниження росту рослин за дії високих температур добре вивчено на пустельних рослинах. При дослідженні розвитку ефемероїдного виду пустель *Gymnarrhena micranatha* (Asteraceae) протягом 50 діб встановлено, що її суцвіття розміщується в ґрунті (на 10 мм нижче поверхні ґрунту). Як це відбувається? Апікальна брунька втягується з поверхні ґрунту всередину ґрунту на глибину до 10 мм. Показано, що пряме втягування головного апекса стебла з поверхні ґрунту (всередину ґрунту) відбувається шляхом розвороту стебла на 180° , після чого стебло продовжує рости та розвиватися. Які ж процеси відбуваються в клітинах та оболонках? Показано, що в корені відбувається стискання клітин ендодерми, перициклу та первинної флоєми; у результаті корінь скорочується в довжину на половину початкового розміру. З'ясовано, що це відбувалося за рахунок утворення радіальних клітинних оболонок. Спостерігався частковий гідроліз клітинних оболонок, що пов'язано із секрецією мультивезикулярних тілець. Зморщені та стиснені клітинні оболонки мали хвилястий вигляд. У клітинних оболонках реєстрували частковий розпад полісахаридів, у тому числі й мікрофібрил целюлози, які мали хвилеподібну форму. Укорочення кореня відбувалося за рахунок його радіального росту (Zamski et al., 1983).

Подальше дослідження пустельного виду *G. micranatha*, який вирощували у фітотроні (за умов близьких до природних, пустельних) показало, що вже при проростанні насіння апекс ростка змінював напрямок росту, він повертався всередину ґрунту в напрямку до кореня, ріст відбувався зі швидкістю 0,18 мм за день протягом 50 діб (Zamski et al., 1983). Питання про клітинні та молекулярні механізми зміни гравітропічної орієнтації апексу *G. micranatha* при посусі поки лишаються відкритими.

Анатомічні ознаки адаптації до посухи. Рослини, що ростуть за умов посухи, показують анатомічні та структурні зміни, зв'язані зі збереженням та запасанням води. У таких рослин виявлені і механічні (та тургорні) зміни клітин та органів під час в'янення (De Micco, Aronne, 2012).

Рослини виявилися здатними підтримувати наявність високого вмісту води. За ознаками стійкості до посухи вищі рослини умовно поділяють на три типи (Levitt 1980). 1-ий тип - це рослини, що характеризуються дуже коротким періодом онтогенезу, для таких рослин характерною є оптимізація поглинання води, зниження транспірації, залучення

осмотичного регулювання та формування дуже компактних та цупких тканин. 2-ий тип – це посухостійкі рослини, які відрізняються наявністю «вікон» в онтогенезі, коли рослина постачається водою у достатній кількості (Greene et al., 2011). При цьому, рослина починає швидко скидати листки для зниження витрат води. У більшості пустельних рослин дуже швидко проходить репродуктивна фаза. У деревних пустельних видів адаптація до спеки відбувається за рахунок сильного зменшення розмірів клітин у середині колючок (Aronson et al., 1992; Franks et al., 2007). 3-ій тип – це сукуленти, чагарникові види, що фотосинтезують та накопичують воду в паренхімних клітинах стебел: у таких рослин можна спостерігати сезонний диморфізм. Під час посухи в них посилюється скручування листків для зниження витрат води, відмічена зміна тургору в епідермісі та мезофілі (*Cistus incanus* L., *Nerium oleander* L., *Cistus monspeliensis* L.). Крім того, показано, що продихи концентруються в заглибинах листків (у *Nerium oleander*). Такі заглибини, часто вкриті восковими трубочками або ж трихомами, що також знижує транспірацію. Крім того, клітини ксероморфних листків у сукулентних рослин характеризуються наявністю дуже товстої кутикули та інтракутикулярного воску (Fahn, 1964; Monneveux, Belhassen, 1996).

Адаптаційна відповідь клітинних оболонок на дію посухи. У стеблах аридних рослин товщина клітинних оболонок трахеальних елементів у провідних пучках сильно збільшується. Самі ж провідні пучки стають дуже вузькими. Скульптура провідних судин стає спіральною. Корені аридних рослин за довжиною можуть бути різними: дуже короткими (до 20 см), або ж довгими (на кілька метрів в глибину ґрунту) з дуже дрібними боковими коренями до 1 м (Phillips, 1963; Kummerow, 1981), що допомагає кореням досягати глибинних водних шарів (у *Agave deserti* Engelm). У таких коренів є специфічні структури, що запасують воду. Це спеціалізовані лакуни кори (Striker et al., 2007), які утворюються із паренхімних клітин: спочатку формуються повітряні порожнини, які пізніше заповнюються водою. Усі клітинні оболонки таких коренів потовщуються, у них посилюється лігніфікація (Mostajeran, Rahimi-Eichi, 2008).

У коренях рослин за умов посухи відмічено зменшення розмірів паренхіми (Pena-Valdivia et al., 2010); в ендодермі потовщуються клітинні оболонки, навколо стели утворюються додаткові шари клітин із сильно суберинізованими клітинними оболонками (North, Nobel, 1996). У перидермі клітинні оболонки також просочуються суберином, який знижує проникнення води через клітини кори. У молодих нестресованих посухою коренів відбувається радіальний потік води через клітини кори, тоді як у стресованих коренів цей процес відсутній внаслідок значної суберинізації оболонок усіх клітин (De Micco, Aronne, 2012). Тобто, суберинізація клітинних оболонок багатьох тканин коренів стає адаптивною ознакою підземних органів на дію посухи.

Дослідження впливу посухи на сільськогосподарські рослини показало, що клітинні оболонки надземних фотосинтезуючих органів також чутливі до дії такого фактору. Вивчення полісахаридів матрикса клітинних оболонок у колеоптилів проростків пшениці при дії посухи від 6 до 15 тижнів показало досить високу чутливість до дії зовнішнього фактора (Konno et al., 2008). Дослідниками встановлено, що в посухостійкого сорту пшениці (Hong

Mang Mai) розміри колеоптилів були в 1,7 раза більшими, ніж у посухочутливого сорту (Shirasagikomugi). На фоні такої різниці в ростових характеристиках виявлено, що вміст фракції клітинних оболонок (розчинної у циклогексантранс-1,2-діамінотетрацетаті, CDTA) у посухостійкого сорту пшениці був у 2,4 раза більшим, ніж у посухочутливого сорту. Суттєві відмінності виявлені і у вмісті окремих цукрів полісахаридів матрикса клітинних оболонок. Протягом першого тижня впливу посухи в посухочутливого сорту виявлено зниження цукрів у фракції оболонок: рамнози, манози, галактози, арабінози, ксилози, глюкози та уронових кислот. Крім того, у геміцелюлозній фракції посухостійкого сорту також відмічені зміни у вмісті наступних цукрів: зниження арабінози, манози, галактози та збільшення рамнози, ксилози, глюкози, уронових кислот при порівнянні з посухочутливим сортом. Ці зміни супроводжувалися збільшенням активності глюкозид-гідролізуючих ферментів: α -галактозидази, α -L-арабінофуранозидази та 1,3-1,4- β -глюканази в посухостійкого сорту. Відмічені зміни матрикса клітинних оболонок колеоптилів двох сортів пшениці за дії посухи відображали порушення метаболізму клітинних оболонок, що безпосередньо впливало й на швидкість росту (Konno et al., 2008). Подібні зміни у вмісті цукрів (глюкози, фруктози та сахарози) та активності 1,3-1,4- β -глюканази раніше відмічені й іншими дослідниками при вивченні дії водного та сольового стресів на стебла пшениці (Kerepesi, Galiba, 2000).

Ранні роботи по дослідженню впливу посухи на лігніфікацію деревини показали, що кільця трахеїд злипалися, так як вторинні оболонки молодих дерев не містили лігніну (Barnett, 1976). Ще у ранніх роботах описаний феномен утворення фальшивих (несправжніх) кілець у посухостресованих дерев (Glerum, 1970). Згідно Donaldson (2002), який вивчав анатомію деревини та характеристику клітинних оболонок у *Pinus radiata* в умовах водного стресу (при посусі), утворюються несправжні ростові кільця з пучками слабо лігніфікованих трахеїд, що було досліджено цитохімічними методами. Показано, що серединна ламела була слабо лігніфікована, як і зовнішні вторинні клітинні оболонки. Трахеїди демонстрували слабе зціплення в частково радіальних клітинних оболонках при формуванні внутрішньоклітинних тріщин. Деякі трахеїди утворювали концентричні ламели із зонами сильної та слабкої лігніфакції вторинних оболонок. У більшості випадків шар S3 був товщим і більш лігніфікованим, ніж у контролі. Трахеїди з найменшою лігніфікацією вторинних оболонок виявилися зруйнованими. Таким чином, було доведено, що відшарування деревини пояснюється слабким злипанням між трахеїдами завдяки зниженню вмісту лігніну в серединній пластинці (Donaldson, 2002). Автор пояснює цей феномен таким чином, що, очевидно, за таких умов відбувалася аномальна лігніфікація за рахунок обезводнення зовнішніх клітинних оболонок. Так як утворення лігніну відбувається з переміщенням води, то рух води чи її нестача в клітинних оболонках повинні заважати або ж запобігати як дифузії та включенню попередників лігніну, так і процесу лігніфікації оболонок.

Клітинні оболонки не тільки змінюють свою структуру у відповідь на дію посухи для зниження випаровувань води клітинами, але й виступають ще й компонентом, який змінюючи свою структуру, акумулює воду для потреб клітини. Зокрема, рослини збільшують вміст пектинів, як вологопоглинаючої складової оболонок. Це було показано в лабораторних умовах при дослідженні коренів та стебел проростків пшениці (*Triticum durum*) двох сортів

(посуhostійкого та посухочутливого) (Leucci et al., 2008). Порівняння між двома генотипами показало певні відмінності у вмісті полісахаридів матрикса оболонки і вмісті α -целюлози. Виявлено, що залишки ксилози, глюкози та арабінози в складі матрикса становлять більше, ніж 90 моль%; рівень ксиланів становив 23-39 моль%, арабіноксиланів - 38-48 моль%, тоді як вміст пектинів та 1-3, 1-4- β -D-глюканів був дуже низьким. Показано, що у посухостійких рослин вміст рамногалактоуронанів I та II значно збільшився за умов водного стресу, тоді як у другого генотипу такого підвищення не відмічено (Leucci et al., 2008). Отримані результати свідчать про те, що в посухостійких сортів пшениці адаптація до посухи відбувається за рахунок збільшення ланцюгів пектинів, що призводить до збільшення доли пектинового гелю, вологопоглинаючої складової оболонки.

Віск та кутикула. Відомо, що надземні органи (листки та стебла) рослин, які ростуть в умовах сухого клімату, синтезують значну кількість воску, який є бар'єром для кутикулярної транспірації (Clark, Bohnert, 1999; Riederer, Schreiber, 2001). Віск та кутикула виступають головними бар'єрами проти «неконтрольованої» втрати води листками (див. 1 розділ, / розділ «Суберин, кутина та віск»). Тому в адаптаційних відповідях надземних органів на дію посухи певну роль відіграє посилений синтез саме цих двох складових клітинних оболонок епідермальних тканин.

Відомо, що віск може бути залитий у кутиновий шар, або ж розміщуватися зверху кутикули. Дослідження тривалого впливу посухи протягом двох років на дерева *Pinus pinaster* показало, що в голках сосни активується синтез епікутикулярного воску, який супроводжувався експресією транскрипційного фактору (SHINE), що бере участь в синтезі кутикули (Provost et al., 2013). Виявлено, що вміст нововідкладеного воску за таких умов залежить від тривалості дії впливу та виду рослини (Riederer, Schreiber, 1995; Neuman, 1995; Cameron et al., 2006; Moor et al., 2008). Так, вивчення впливу посухи протягом трьох діб на рослини тютюну (*Nicotiana glauca* L. Graham) показало збільшення у півтора-два рази вмісту воску в листках у порівнянні із листками нестресованих рослин (Cameron et al., 2006). Автори відмічають, що вміст воску в нижніх листках був вищим, ніж у верхніх листках рослини.

За умов сильної посухи в рослин *Arabidopsis thaliana* підвищується не тільки вміст воску, але й вміст кутину, що супроводжувалося збільшенням майже на 50 % товщини клітинних оболонок. Відкладання воску та збільшення шару кутикули в епідермі посилювало стійкість рослин до тривалої дії посухи. Подібний феномен відмічено й іншими дослідниками при вивченні впливу посухи на листки *Arabidopsis thaliana* (Aharoni et al., 2004) та *Medicago sativa* (Zhang et al., 2005).

Навіть в умовах помірного клімату, в умовах природного водного дефіциту відбувається прискорення синтезу воску на поверхні листових пластинок. Проводячи порівняльне дослідження ультраструктури епідерми листків *Alisma plantago-aquatica*, що росла на березі річки та на відстані до 10-20 м від берега (за умов помірного водного дефіциту), нами було встановлено збільшення щільності воскового нальоту на верхній епідермі листків в 2,5 рази, на нижній епідермі – у вісім разів (Недуха та ін., 1998; Недуха, 2003).

Молекулярними методами показано, що при посусі посилення синтезу воску та кутину супроводжується активацією генів (*Ltps* та *WAX9*), що експресують білки, залучені до синтезу та відкладання воску й кутину, а також до синтезу транспортуючих білків – учасників синтезу воску та кутину (Kunst, Samuels, 2009). При дослідженні дії тривалої посухи на модельну рослину *Arabidopsis thaliana* Косма зі співавторами (Kosma et al., 2009) ідентифікували 11 генів, які вони розділили на групи відповідно до функцій білків, які вони кодують:

- 1 – транскрипційний фактор, що регулює біосинтез кутикули (*SHINE1*);
- 2 – гени (*CER6/KCS6*, *KCS4*, *KCR1*, *ECR/CER10*), що регулюють синтез білків у VLCFA (very long-chain fatty acids);
- 3 – гени, залучені до редукції та шляхів декарбонізації (*CER1*, *CER2*, *CER3*);
- 4 – ген, що залучений до біосинтезу воску та кутикули (*LACS3*) (Kosma et al., 2009).

Чен зі співавторами, розглядаючи дію посухи та відповідь рослин на такий стрес, запропонували схему щодо фізіологічної відповіді рослини на дію цього фактору, що включає: сприйняття коренем сигналу посухи (при низьких значеннях вологості ґрунту) → втрата тургору та регуляція осмотичного тиску → зменшення водного потенціалу (Ψ) → зменшення швидкості росту → зниження продигової провідності для CO_2 → зменшення внутрішньоклітинного вмісту CO_2 у листках → зниження фотосинтезу → експресія генів та синтез специфічних білків та АБК (Chen et al., 2005).

Участь ферментів клітинних оболонок в адаптаційних процесах. Встановлено, що вплив посухи залежить від тривалості її дії, виду рослини та органу. Показано, що навіть незначна посуха (до 12 діб) викликала збільшення вмісту попередників лігніну (кумарової та кофєїнової кислот) у си́лемному соці кукурудзи, що було наслідком зниження активності аніонної пероксидази, і вказувало на вплив посухи на біосинтез лігніну (Alvarez et al., 2008). Різні зони кореня кукурудзи по різному відповідають на посуху: так у базальній частині коренів відбувається інгібування росту в порівнянні з апікальною частиною коренів, що пов'язано з експресією двох генів, залучених до біосинтезу лігніну: шинаміл-СоА-редуктази-1 та -2. Таке зниження росту пов'язано зі збільшенням відкладів лігніну, які посилюють жорсткість клітинної оболонки та знижують швидкість росту, що також може бути обумовлено змінами таких факторів як вода, мінерали та цукри.

Після дії 28 добової посухи проростків *Trifolium repens* виявлено зниження росту та збільшення синтезу лігніну в листках, що супроводжувалося збільшенням активності гваяколпероксидази, сирингалдазинпероксидази та коніферолалкогольпероксидази (Bok-Rye et al., 2007).

Встановлено, що в листках рослин за умов посухи змінюється активність ферментів, які зв'язані з синтезом лігніну. Так, при вивченні тривалої (35 та 47 діб) посухи на листки *Ctenanthe setosa*, встановлено, що паралельно зі збільшенням вмісту лігніну активність ферментів, що беруть участь в його синтезі також збільшувалася, зокрема: активність фенілаланінамонійліази, розчинної ковалентно зв'язаної пероксидази та поліфенолоксидази (Terzi et al., 2013).

Тобто, вищезазначені структурні зміни в листках та коренях аридних рослин є наслідком змін клітинного розтягу. Відомо, що клітинний розтяг – це процес модифікації та розрихлення оболонки, що каталізується як ферментативними білковими компонентами клітинної оболонки, так і не ферментативними (Cosgrove 2005). Експансини є ключовими білками, що розрихляють оболонку та розривають водневі (не ковалентні) зв'язки між целюлозою та оточуючим матриксом, що надає спроможності ковзання компонентів оболонки при пониженому кислому рН (кислий ріст) та, як наслідок, призводить до збільшення розтягу клітинної оболонки (McQueen-Mason et al., 1992). Очевидно, що зміни в рості коренів за дії посухи обумовлені модифікаціями в білковому балансі.

Участь генів в адаптаційних процесах до дії посухи. Молекулярними методами, зокрема, транскрипційним аналізом генів, показано репресію численних генів експансинів у рослин, що росли за умов дії посухи (Jones, McQueen-Mason, 2004; Skirycz et al., 2010). Виявлено ранню реакцію генів *pDr* (progressive drought) на стрес-посуку в проростків *Arabidopsis thaliana* і показано, що при посуці вже на першу добу дії стресу відбувається зниження експресії чотирьох генів експансинів, тоді як п'ятий ген *EXLB1* знижував свою експресію, починаючи із другої доби стресу (Harb et al., 2010). Активація — чи репресія цих генів залежить від виду та сили дії стресу, тобто, ці гени проявляють ранню реакцію на дію посухи. Іншими дослідниками встановлена експресія генів експансинів (*Exp1*, *Exp5* та *ExpB8*) за дії зниження водного потенціалу чи посухи в апексі коренів, у листках кукурудзи, а також в апексі стебел томатів (Wu, Cosgrove, 2001; Vogler et al., 2003; Muller et al., 2007; Neuman, 1995; Moor et al., 2008).

Фізичні властивості клітинної оболонки відіграють важливу роль в адаптації рослини до водного дефіциту (Васон 1999). Аналіз транскриптому *pDr* показав репресію численних генів, що беруть участь у розтязі оболонки (Bray 2004), тоді як дія помірного осмотичного стресу індукувала експресію генів розтягу (Skirycz et al., 2010). Зміни розтягу клітин при посуці характерні для кореневої системи кукурудзи при низькому водному потенціалі (Wu, Cosgrove 2000). До того ж, це показано й на листках соняшника (*Helianthus annuus*), кукурудзи та арабідопсису (Mathews et al., 1984; Aguirrezabal et al., 2006; Bouchabke et al., 2006; Granier, Tardieu 2009).

Дослідження впливу посухи на мутанти *Arabidopsis* (по гену целюлозосинтетази - *AtCesA8/IRX1*), які були стійкими до посухи, дії NaCl, манітолу та інших осмотичних речовин показало, що синтез целюлози за цих умов обумовлений експресією генів целюлозосинтетази (Chen et al., 2005). Ці дослідники вивчали вплив посухи, що викликала відсутністю поливу протягом двох тижнів, на генетичні ознаки целюлозосинтезуючого комплексу в листових пластинках *Arabidopsis thaliana*. Встановлено, що в листках двох мутантів *Arabidopsis* з генами в'янення (leaf wilting 2-1, *lew2-1* та leaf wilting 2-2, *lew2-2*), які були стійкими до посухи, засолення та осмотичних стресів, відбувалися наступні фізіологічно-молекулярні зміни. Показано, що мутант *lew2* накопичував більше АБК, проліну та розчинних цукрів у порівнянні з контролем (диким типом). У цього мутанта виявля-

ні нові алелі гену *AtCesA8/IRX1*, що кодує субодиниці целюлозосинтезуючого комплексу. Отримані дані дозволяють припустити, що синтез целюлози має важливе значення у відповідь на осмотичний стрес та на дію посухи (Chen et al., 2005).

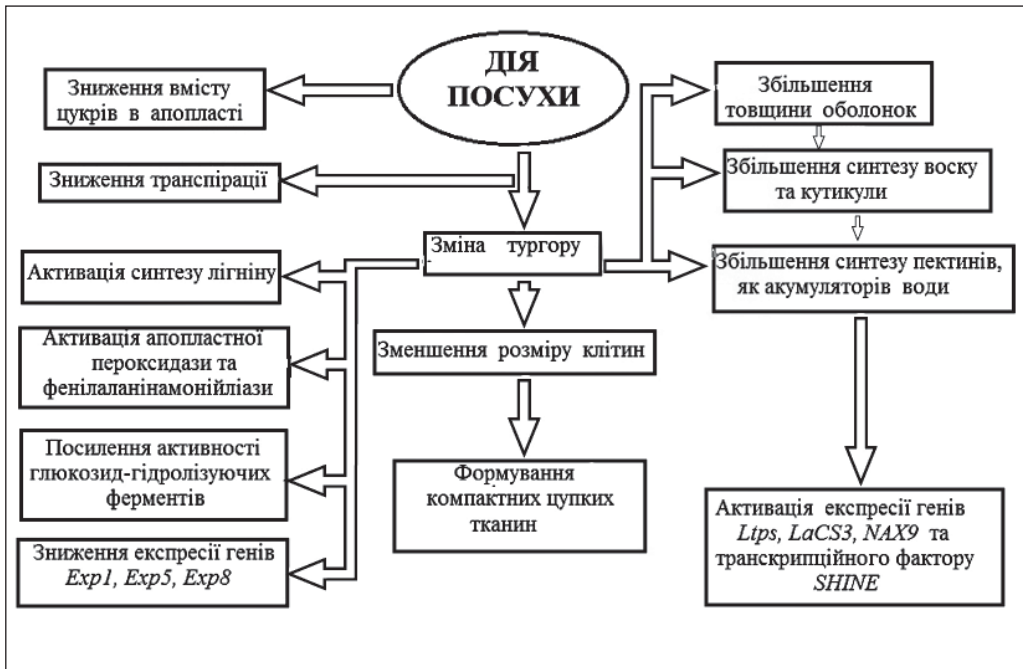


Рис. 2.3.1. Схема адаптаційних структурно-метаболических змін клітинних оболонок при дії посухи

Підсумовуючи викладений вище матеріал численних експериментальних робіт, можна запропонувати наступну схему відповіді клітинних оболонок рослин, що ростуть в умовах посухи чи в пустелях: сприйняття сигналу посухи (високої температури в повітрі та зниження вологості ґрунту) листками та коренями → припинення, чи інгібування росту клітин коренів та листків → зниження розмірів клітин → закриття продихів в листках → зниження продигової провідності для CO_2 → припинення роботи продихів та скидання листків → у коренях формування водних лакун; у стеблах сукулентів (при скиданні листків) запасання води в спеціалізованих лакунах паренхіми → потовщення клітинних оболонок, їх лігніфікація та суберинізації, синтез воску, експресія генів, зв'язаних із синтезом екстенсинів, дегідринів та целюлози, активація ферментів синтезу лігніну, суберину та кутикули, що обумовлено змінами експресії відповідних генів (рис. 2.3.1).

2.4. ЗАСОЛЕННЯ

Термін «засолення» відноситься до наявності в ґрунті та/чи у воді великої кількості катіонів (Na^+ , Cl^- та K^+) та солей розчинних електролітів у концентраціях, які є згубними для багатьох сільськогосподарських культур. Засолення спострігається в місцях із вологими зонами, де просочення води відбувається через засолені шари ґрунту, а також при накопиченні в ґрунті солей, якщо маємо дисбаланс поживних іонів та дію специфічних іонів, а також малу кількість опадів або ж при комбінації цих факторів (Hillel et al., 2005). Це можна спостерігати в аридних та напіваридних зонах.

При сольовому стресі знижується ріст клітин розтягом та відбувається комплекс структурних змін клітинних оболонок, подібних до змін при водному дефіциті. Первинний ефект – це зниження водного потенціалу (Ψ_p), обезводнення клітини та стійкість провідності води; тоді як вторинний ефект включає: зниження росту розтягом клітин листків, часткове інгібування клітинної та метаболічної активності роботи продихів (направлене на їхнє закриття), це призводить до зниження інтенсивності чи інгібування фотосинтезу, змін вуглецевого обміну, активації та синтезу реактивних форм кисню, а також до іонної токсичності (Taiz, Zeiger, 2009). Саме високі концентрації Na^+ та Cl^- впливають на виникнення осмотичного стресу (de Olivera et al., 2013). Рослина реагує на зниження тургору в листках інгібуванням росту клітин та закриттям продихів, що веде до зниження фотосинтетичної активності (Davies, Zhang, 1991). Вважають, що пригнічення росту клітин при засоленні опосередковане зниженням пластичності структури клітинних оболонок в зонах розтягу коренів та листків (Chazen et al., 1995; Neumann et al., 1994)

Відомо, що висока концентрація солей, зокрема, Na^+ , викликає деформацію ґрунту, а саме знижує його аерацію та водну провідність, аналогічно, як і при дії посухи. При засоленні основними хімічними елементами, які залучені в сольову сигналізацію, є K^+ , H^+ та Ca^{2+} . Поглинання надлишку Na^+ знижує тиск і полегшує засвоєння Cl^- . Хоча Na^+ є токсичним елементом для клітини, він інгібує фотосинтез, викликає іонний дисбаланс у клітині, який пригнічує структуру мембран, інгібує ділення та розтяг клітин (Niu et al., 1995), тоді як K^+ потрібен для нормалізації осмотичного балансу, роботи продихів, крім того, цей іон є кофактором піруваткінази. Ca^{2+} відіграє певну роль у забезпеченні стійкості рослини при засоленні, тому що він знижує токсичну дію NaCl , як вторинний посередник, що бере участь у сигналізації, і викликає адаптаційні зміни клітини при засоленні (Knight, et al., 1997).

Рослина позбавляється негативної дії сольового стресу шляхом синтезу та акумуляції осмолітиків, подібних до проліну, фруктози, гліцинбетаїну, сахарози та ін. для підтримки тургору та внутрішньоклітинного гомеостазу (Ewing, 1981; Parida, Das, 2005). За таких умов відбувається активація генів, що відповідають за експресію білків (у тому числі й циклофілінів), які допомагають розвитку стійкості рослини до дії стресових факторів (Tuteja, 2007; Trivedi et al., 2013).

Клітинні оболонки рослин першими сприймають вплив засолення, тобто дію значних концентрацій натрію та хлору, які разом із поживними речовинами поглинаються клітинами коренів. Сприйняття такого сигналу та адаптаційні реакції-відповіді на засолення клітинними оболонками відбуваються на рівні зміни синтезу як основних полісахаридів (целюлози та матрикса) оболонки, так і інкрустуючих складових. Зменшення розмірів клітин та інгібування росту розтягом за умов засолення є результатом змін метаболізму клітинних оболонок.

Суберинізація. Відомо, що засолення ґрунту призводить до зниження росту кореневої системи, суберинізації гіподерми та ендодерми у проростків бавовнику (Reinhard, Rost, 1995), потовщення клітинних оболонок кори коренів, особливо, у деяких видів голонасінних (Praktikakis et al., 1998). Цікаві результати отримані Шеноном зі співавторами при вивченні впливу засолення на клітинні оболонки тканин кореня (Shannon et al., 2004). Дослідники показали посилення суберинізації в гіподермі та ендодермі. Збільшення суберинізації та лігніфікації в екзодермі коренів у рослин бавовника відмічено й Хосе зі співавторами (Hose et al., 2001).

Пектини та геміцелюлози. Полісахариди матрикса клітинних оболонок (пектини та геміцелюлози) є досить лабільними структурами за умов засолення. Для вивчення ролі пектинів у адаптації рослин до засолення китайські дослідники проводили паралельне вивчення рослин стійких до засолення, що ростуть на засолених ґрунтах, та рослин, які чутливі до засолення. Для цього в дослідах використали відповідно два види рослин: кристалеvu траву (*Mesembryanthemum crystallinum*) – стійку до засолення, та дикі рослини *Arabidopsis thaliana*, нестійкі до засолення. Методом інфрачервоної спектроскопії ними встановлено, що після однієї доби росту на засоленому середовищі (50 мМ NaCl) активація синтезу пектину спостерігалася в нестійкого виду і тільки після двох діб дії засолення – у листках обох видів (Yang, Yen, 2002).

Несар (Nesar, 2012), досліджуючи вплив засолення (50, 75 та 100 мМ NaCl) на клітинні оболонки стебел та листків проростків кукурудзи двох сортів (гібрид Pioneer 3906, що є нестійким до засолення, та солестійкий SR-12 гібрид) і порівнюючи дані з контрольними рослинами, що росли на середовищі із низьким вмістом солі (1 мМ NaCl), встановила, що засолення, незалежно від сорту кукурудзи, інгібувало ріст проростків та зменшувало лінійні розміри листків. Загальний вміст уронових кислот у фракції оболонок достовірно збільшився (на 27%) при впливі засолення в концентрації 100 мМ солі, тоді як ступінь метилювання уронових кислот відповідно зменшувався в стеблах кукурудзи. Вміст нейтральних цукрів (ксилози, арабінози, глюкози, галактози та рамнози) в молодих стеблах також збільшувався при засоленні. Концентрація загального вмісту геміцелюлоз збільшилася лише в молодих стеблах. Вміст уронових кислот та ступінь їх метилювання знижувалися при дії засолення, але тільки у нестійкого до засолення сорту кукурудзи, а значить, концентрація неметилюваних уронових кислот збільшилася (на 25 % у стійкого сорту та на 12 % у нестійкого сорту) (Nesar, 2012).

Відомо, що метилювання пектинів (уронових кислот полігалактоуронової кислоти) знижує здатність іонів Ca^{2+} утворювати поперечні зв'язки з карбоксильними групами пектинів, а також підтримує здатність пектинів до розтягу тканини (Knox *et al.* 1990). Фермент метилестераза діє на гомогалактуронани, збільшуючи вміст неметилюваних сайтів галактоуронової кислоти, що веде до формування цупких (негнучких) гелів, які містять Ca^{2+} -поперечні зв'язки, і на сам кінець, це може призвести, як до зміни натягу оболонки, так, і до зниження її росту (Cosgrove, 1997; 2005). Останнє й було підтверджено даними про інгібування росту у проростків кукурудзи при засоленні (Nesar, 2012).

Несар показала, що вміст глюкози у фракції оболонок збільшився на 12 % при сольовій обробці, тоді як вміст арабінози - на 27 та 22 %, відповідно у обох сортів кукурудзи. Вміст нецелюлозних нейтральних цукрів геміцелюлоз показав незначне достовірне підвищення у фракції оболонок молодих стебел лише у солестійкого гібриду SR-12, зокрема, β -D-ксилози, α -L-арабінози, α -D-галактози, α -L-рамнози (Nesar, 2012).

Целюлоза. Встановлено, що засолення впливає на синтез целюлози в коренях проростків паралельно із інгібуванням росту рослин. Це було показано на проростках дикого типу *Arabidopsis thaliana* та мутантах цього виду, дефектних у синтезі целюлози (ген *rsw2-1*), які вирощували 7 діб на середовищі з додаванням від 50 до 100 мМ NaCl (Kang *et al.*, 2009). Дослідники встановили, що в рослинах *A. thaliana* дикого типу вміст кристалічної целюлози був більшим, ніж у целюлозо-дефіцитних мутантів, і становив 545.42 ± 12.04 нМ глюкози/мг сухої маси – у дикого типу та $458,41 \pm 43,24$ нМ глюкози/мг сухої маси в мутантних рослин. Крім змін у вмісті целюлози, у кінчиках коренів проростків, що піддавались засоленню, цитохімічним методом також встановлено й підвищення синтезу калози (Kang *et al.*, 2008).

Показано зниження вмісту целюлози в оболонках проростків кукурудзи за умов засолення (Nesar, 2012). Подібний феномен спостерігали й при осмотичному стресі в коренях бавовника (Zhong, Läuchli 1993), клітинах культури тканин тютюну (Iraki *et al.*, 1989, в) та у клітинах колеоптиля пшениці (Wakabayashi *et al.*, 1997, с). Можливо, що такі зміни можуть бути опосередковані змінами роботи целюлозо-синтезуючого комплексу плазмалеми.

Лігнін та ферменти оболонок. Щодо синтезу лігніну в рослин, що зростають на засолених ґрунтах, дані суперечливі. Так, ранні дослідження впливу засолення на галофіт *Atriplex prostrata* не виявили впливу чинника на лініфікацію (Ewing, 1981). Тоді як пізніші дослідження показали посилення лігніфікації коренів та стебел рослин, що зростали в умовах засолення (Hagege *et al.*, 1988; Wang *et al.*, 1997).

Цитохімічними методами встановлено, що при обробці проростків *A. prostrate* 1 %-им, 2 %-им та 5 %-им розчином NaCl (на середовищі Хогланда) після двох діб дії засолення, виявлено наявність лігніну в оболонках кори та епідермісу стебла, біохімічними методами показана активація розчинної пероксидази в серцевині, корі та епідермі стебел, зокрема у пешому, другому та третьому міжвузлях. Такі зміни в клітин-

них оболонках супроводжувалися зниженням площі листових пластинок, зменшенням у 2,5 раза провідності продихів у листках та зниженням водного потенцілу в стеблі із $-1,26 \pm 0,075$ мПа до $-3,00 \pm 0,071$ мПа (Wang et al., 1997).

У процесі адаптації рослин до засолення активну участь беруть ферменти, що зв'язані з біогенезом полісахаридів та інкрустуючих оболонки речовин. Так при дослідженні впливу NaCl (у концентрації від 50 до 150 мМ на літр) на проростки рису, встановлено, що на фоні інгібування росту кореневої системи активність пероксидази, що бере участь у синтезі лігніну, збільшилася у чотири рази (Lin, Kao, 2001). Враховуючи, що посилена лігніфікація коренів призводить до інгібування їхнього росту, автори роблять висновок, що в адаптаційних процесах до засолення активну участь бере пероксидаза. Крім цього, посилення лігніфікації при засоленні проходить паралельно з активізацією антиоксидантних ферментів, а саме рН-залежної амінооксидази, та накопиченням H_2O_2 (Kasperska, 2004). Накоплення перекису водню та інших реактивних форм кисню в апопласті відіграє не тільки захисну для рослини від руйнації, але сприяє синтезу лігніну в оболонці (Olson, Varner, 1993).

Дослідження сольового стресу протягом 11 діб на проростки кукурузи також показало збільшення вмісту лігніну (до 25 мг/гр^{-1} сирої маси оболонок), тоді як у контролі вміст лігніну був значно нижчим (біля 15 мг/гр^{-1} сирої маси оболонок) Крім того, загальний вміст монофенолів та ферулової кислоти також збільшився в молодих стеблах при засоленні, особливо у солечутливого сорту, у порівнянні із солестійким сортом кукурудзи. Вміст ацетил-бромід-розчинного лігніну у фракції оболонок молодих стебел обох сортів кукурузи достовірно не змінився, хоча відмічена тенденція до його зниження при стресі (Nesar, 2012).

Білки оболонок. Відомо, що активність білків клітинних оболонок змінюється за будь-яких стресів, у тому числі й при дії засолення. Це наступні білки: гідроксипролін; білки, збагачені гліцином (екстенсин, лектин, арабіногалактанові білки) (Showalter, 1993; Cassab, 1998; Albenne et al., 2013), тобто це білки, що відповідають за ліпідний та вуглеводний метаболізм; білки з літичною активністю та білки, що залучені до сигналізації. Проте функція не всіх білків оболонки вивчена, так у *Arabidopsis thaliana* функція 11 % білків клітинних оболонок ще невідома (Jamet, et al., 2008).

Вважають, що в сприйнятті сигналу дії засолення, як і іншого стресового фактору, у першу чергу, беруть участь білкові рецептори клітинної оболонки (рис. 2.4.1) (Zagorchev et al., 2014), які передають цей сигнал на систему транспортування в цитоплазму. Такими рецепторами, очевидно, є молекули арабіногалактанових білків, які зв'язують клітинну оболонку із плазмалемою, елементами цитоскелету та складовими апопласта (полісахаридами та інкрустуючими речовини) (Ellis et al., 2010).

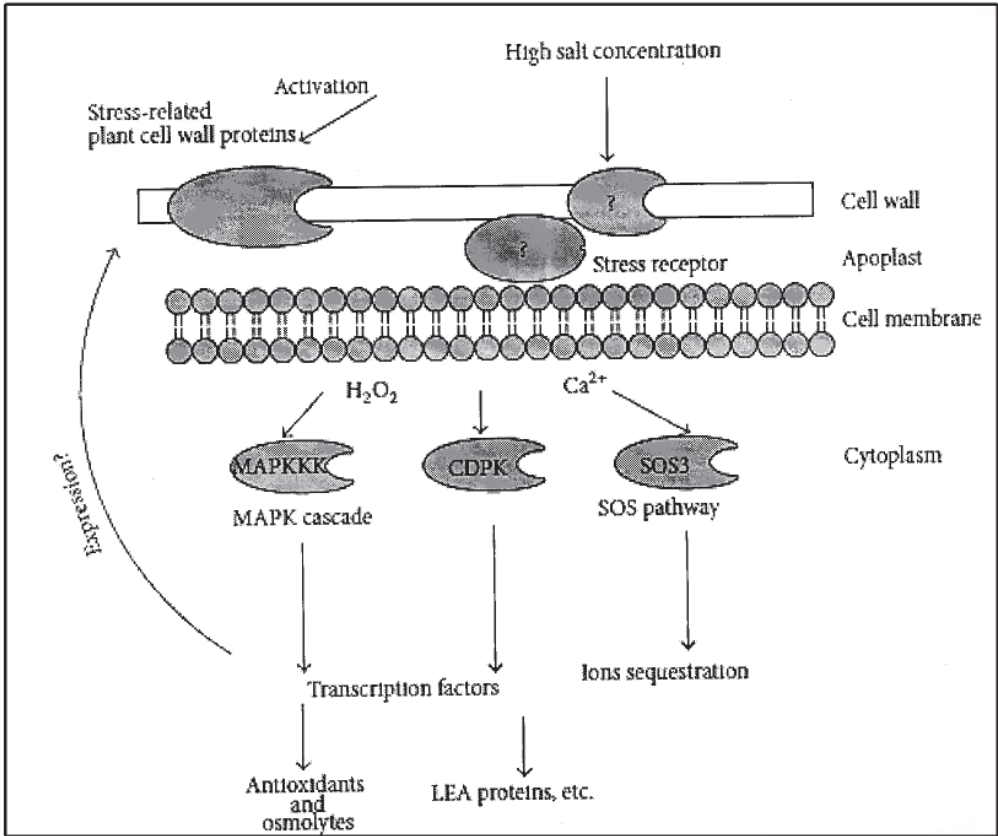


Рис. 2.4.1. Схема сприйняття та передачі сигналу про засолення на рослинну клітину. В основних шляхах сприйняття передачі сигналу задіяні Ca^{2+} -залежні білки: MAPK, CDPK та SOS. Крім цього, у сигналізації беруть участь перекис водню і рецептори клітинної оболонки, що зв'язані з кінзамами. Позначення білків: MAPK – мітоген-активована протеїнкіназа (MAPK, mitogen-activated protein kinase); CDPK – Ca^{2+} -активована протеїнкіназа; SOS – сильно чутливий до засолення білок (SOS, salt overly sensitive) (Zagorchev et al., 2014)

За даними ряду авторів (Vinocur, Altman, 2005; Tuteja, Sopory, 2008; Osakabe et al., 2013) рецепторами стресу на клітинній оболонці можуть бути наступні білки: білки MAP (mitogen-activated protein), білки SOS - соле-чутливі кінзи (SOS, salt overly sensitive), фосфоліпази та численні транскрипційні фактори, включаючи фактор теплового шоку (HSF, heat shock factor), транскрипційний фактор, що чутливий до обезводнення (CBF/DREB, C-repeat binding factor/dehydration-responsive element binding protein), транскрипційний фактор із родини білків, чутливих до зміни АБК (ABF/ABRE, ABA-responsive element binding factor/ABA-responsive element). Крім цих білків, рецепторами стресу, очевидно,

можуть бути численні кінази (WAK, wall-associated kinases), які зв'язані з пектиновою сіткою, і, пронизуючи плазмалему, потім зв'язуються із цитоплазматичним доменом Ser/Thr (Kaspercska, 2005). У різних видів виявлено дванадцять різних рецепторо-подібних кіназ, які активуються у відповідь на абіотичний стрес (Osakabe et al., 2013).

Відомо, що при дії біотичних та абіотичних стресів беруть участь численні білки клітинних оболонок, що задіяні в синтезі полісахаридів, реорганізації структури оболонки та її розрихленні під час росту клітини (Sasidharan et al., 2011). Основними й критичними білками росту клітин є α - та β -експансини, які різняться амінокислотною послідовністю та субстратною специфічністю. Встановлено, що саме експансини реагують на засолення. Виявлено шість ізоформ експансинів у стікого та нестійкого сортів кукурузи при вивченні впливу засолення (Geilfus et al., 2010) і показано збільшення кількості ізоформ цього білка саме в толерантного сорту у порівнянні із солечутливим сортом кукурудзи. Такі відмінності й можуть пояснити чому солечутливі рослини виявляють показники інгібування росту, тоді як солестійкі сорти здатні підтримувати ріст та стабільність маси навіть при високих концентраціях NaCl (Geilfus et al., 2010).

Таким чином, вивчення впливу засолення на клітинні оболонки рослини показало дію досліджуваного чинника на різноманітні ланки метаболізму, які призводить до пригнічення росту клітин, тканин та органів, що схематично представлено нами на рисунку 2.4.2.

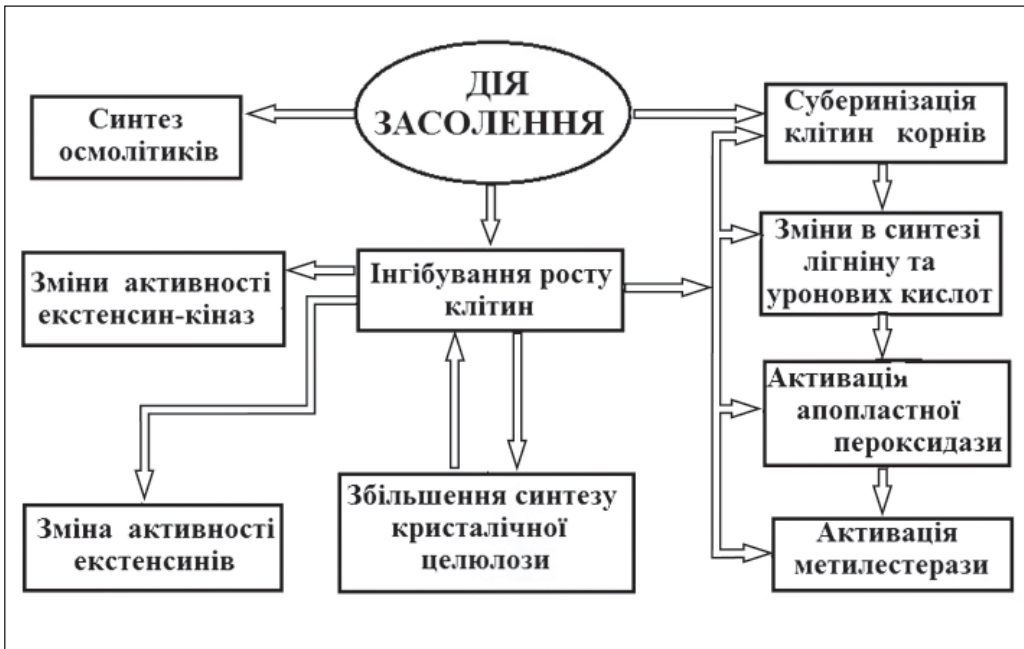


Рис. 2.4.2. Схема участі та адаптаційних структурно-метаболических змін клітинних оболонок при дії засолення

2.5. ЗМІНА ВОДНОГО РЕЖИМУ

При затопленні рослин відбувається зміна водного режиму клітин, тканин та органів. Затоплення є потенційно пагубним стресом для багатьох суходільних рослин, що може відбуватися при покритті території водою й спричинюватися як природними (розливи річок, рясні опади, морські приливи), так і штучними причинами (будівництво водосховищ, ставків). Воно може бути короткочасним, періодичним (під час розливу річок) або ж довготривалим, при якому деякі суходільні види рослин та сільськогосподарські культури можуть загинути. Затоплення має місце при заболоченні ґрунтів, тимчасовому чи постійному перезволоженні, при порушенні технологій на зрошувальних землях. Особливістю дії затоплення, як стрес-фактору, є поєднання значних змін оводненості та порушення кисневого дихання в кореневій системі, внаслідок чого спостерігається порушення поглинання іонів із ґрунту, нестача поживних речовин, зміни на рівні транспорту метаболітів та ростових процесів. У коренях утворюється аеренхіма, починаються процеси бродіння з утворенням молочної кислоти, які призводять до закислення середовища навколо кореневої системи (Vartapetian et al., 1970; 2003).

Спектр фізико-екологічних умов при затопленні. При затопленні на рослину діють наступні фактори: зниження освітлення та зміна його спектру, нестача кисню та CO_2 . Відомо, що вода поглинає світловий потік, ослаблення якого прямо пропорційне глибини води (Доронин, 2000; Лансберг, 2003). Зниження освітлення у воді відбувається внаслідок взаємозв'язку двох процесів: поглинання та розсіювання світла водою. Світло поглинається також органічними та неорганічними часточками, які є у воді. І чим менше енергії має світло, тим швидше воно поглинається. Тому довгохвильові частини спектра, а саме червоні та оранжеві промені, поглинаються вже на глибині кількох метрів, а потім зникає жовте світло, найглибше проникають синій і зелений спектр білого світла (Лансберг, 2003).

Підводні листки рослин зазнають не лише дефіциту світла, а й нестачу CO_2 , який має високу розчинність, але низький коефіцієнт дифузії в прісній воді ($1,7 \times 10^{-9} \text{ м}^2/\text{с}$ при 20°C). Крім того, рН прісної води також впливає на розчинність газів, і це визначає відношення CO_2 і HCO_3^- у воді (Madsen, Maberty, 1991). У повітрі вміст вуглекислого газу становить 0,03 %, азоту – 78,09 %, кисню – 20,95 %. У воді вміст розчиненого кисню залежить від атмосферного тиску: чим більше тиск, тим більша розчинність кисню. Так, при 1 атм та при 25°C в 1 кг води розчиняється 0,023 гр кисню. У той же час розчинність вуглекислого газу у воді у 200 разів вища, ніж кисню (Доронин, 2000). Вміст CO_2 у прісній воді становить $350 \text{ мм} \cdot \text{м}^{-3}$, дифузія газів у воді також нижча (на кілька порядків). Підводні рослини потребують у 30 разів більше вільного CO_2 для його насичення підводними листками, і тому рослини, що занурені у воду, використовують як джерело вуглецю іони HCO_3^- (Sand–Jensen et al., 1992). Умови росту у водному середовищі можуть спричинити загибель гідрофітів

при поганому доступі світла, коли рівень кисню у воді та в рослинах знижується, що призводить до інгібування вуглеводного метаболізму (Mommer et al., 2004).

За підводних умов дифузія газів, які є воді, а саме кисню та CO_2 є значно повільніша, ніж у повітрі, і саме цим обмежуються нормальний фотосинтез та аеробне дихання. Деякі рослини, що стійкі до затоплення, використовують прискорення росту стебел для виходу з води; таке стебло піднімається у повітря над затопленою частиною рослини. Частина рослини, що виходить з води, починає контактувати з повітряним оточенням, відновлюючи аеробний метаболізм та фотосинтез (Voesenek et al., 2006).

Проте справжні гідрофіти та болотні рослини, які пристосувалися як до нестачі кисню в ґрунті, так і до постійного водного середовища, протягом тисячоліть виробили певні механізми адаптації на різних рівнях організації рослини. Основними ознаками перебудови є зниження товщини листової пластинки, зміна типу мезофілу, наявність хлоропластів у епідермісі та перебудови структури клітинних оболонок (Mommer et al., 2005; Недуха, 2011; Kordyum, Klimentko, 2013). Вищезазначені ознаки сприяють акліматизації та підтримують стійкість рослин до підводного існування, при якому CO_2 входить у фотосинтезуючі клітини шляхом дифузії через зовнішні епідермальні оболонки. Вуглекислий газ проникає в підводні листки та стебла через клітинні оболонки епідермісу, які за структурою відрізняються від клітинних оболонок надводних і плаваючих листків гідрофітів та листків мезофітів. Тому аналіз порівняльних структурно-функціональних досліджень затоплених та повітряних листків має важливе значення для розуміння ролі клітинних оболонок в адаптації рослини до природного водного оточення. Для повної оцінки ролі клітинних оболонок в адаптації рослин до затоплення необхідно охарактеризувати ріст затоплених рослин.

2.5.1. Структурно-функціональні зміни клітинних оболонок

Ріст затоплених рослин. Найбільший стрес для підводних рослин – це послаблення газового обміну, що спричиняє зниження кисню в стеблі (Jackson, Armstrong, 1999; Rijnders et al., 2000), індукує посилений ріст розтягом стебла та сприяє виходу листків із води на поверхню й прискорює їхній контакт із повітрям (Voesenek et al., 2004).

Досить детально охарактеризовані два види рослин, які відповідають на затоплення видовженням стебел, глибоководний рис та щавель (*Rumex palustris*). У глибоководного рису затоплення викликає швидкий ріст міжвузлів (Kende et al., 1998). Структура клітин стебел рослин, які повністю затоплюються, досліджена частково. Зміна структури різних клітин стебел затоплених рослин є прикладом мінливості даного органу (Kende et al., 1998; Mommer et al., 2006, a, b; Voesenek et al., 2006).

Модифікація клітинних оболонок за умов підводного розтягу потребує наявності енергії, але, зазвичай, такі рослини характеризуються обмеженим аеробним метаболізмом. Для глибоководного рису та *R. palustris* адаптація до затоплення розглядається лише у випадку

неглибокого затоплення і лише на певний час, внаслідок недостатньої енергії, яка повинна інвестуватися для росту у воді протягом тривалого часу (Voeseenek *et al.*, 2004).

Показано, що не всі рослини відповідають активацією розтягу стебла в умовах затоплення. Рослини, що є стійкими до затоплення, як низькорослий рис, витримують нетривале затоплення в стані спокою та обмеженого росту, а також за умов поступового спаду води (при зниженні водного паводка) (Bailey-Serres, Voeseenek, 2008).

Проведені дослідження за умов затоплення дали змогу ідентифікувати структурні зміни стебел та листків з використанням модельної системи *Rumex palustris* (Mommer *et al.* 2007). Показано, що повне затоплення стебла спричиняє низку змін на рівні структури листка: товщина пластинки та товщина кутикули в епідермальних клітинних оболонках стає меншою в акліматизованих листків, які розвивалися під водою, порівняно з не акліматизованими листками (Mommer *et al.*, 2005). Така пластичність є наслідком посилення газового обміну між листками та водним оточенням після 10-добового затоплення (Mommer *et al.*, 2006, b). Це відбувалося завдяки збільшенню вмісту кисню в стеблі, яке піднялося над водою (Mommer *et al.*, 2004).

Роль фітогормонів. При затопленні газоподібний гормон етилен у високій кількості накопичується в рослині, яка занурена у воду (Rose-John, Kende, 1985). Етилен розглядається як первинний сигнал дії затоплення (Jackson, 2008). Показано, що в *R. palustris* він накопичується у великій кількості. Збільшення вмісту етилену в *R. palustris* швидко індукує експресію гену (*RpEXP1*), чого не спостерігається в *R. acetosa* (Vriezen *et al.*, 2000). Як і екстенсин, так і етилен стимулюють апопластне підкислення у черешках листків *R. palustris* (Vreeburg *et al.*, 2005). При зниженому (кислому) рН апопласту активуються численні білки, включаючи екпансини (Cosgrove, 2000), що призводить до змін у структурі клітинної оболонки. Так, у глибоководного рису екпансини залучені до розтягу міжвузлів стебла під водою, що регулюється гібереловою кислотою (ГК) (Cho, Kende, 1997, b). Проте етилен у підводних умовах регулює зниження АБК, і це також опосередковано дією ГК (Raskin, Kende, 1984; Hoffmannbenning, Kende, 1992).

Роль екпансину. Посередником прискороного росту рослин, занурених у воду, виступають білки екпансини. Трансгенні рослини рису (з експресією екпансину) є значно вищими в порівнянні з їхніми дикими типами (Choi *et al.*, 2003), що вказує на те, що саме екпансини регулюють ріст. Подібні результати спостерігали й у стійкої рослини до затоплення, а саме в *R. palustris*, у якої екпансини регулюють видовження черешка (Vreeburg *et al.*, 2005). Ріст експресії екпансину не спостерігався, коли затопляли непристосовану до затоплення рослину *R. acetosa*, що не мала здатності до видовження черешка під водою (Vriezen *et al.*, 2000).

Міжвузля рису, які ростуть під водою, характеризуються більш еластичними клітинними оболонками, які, за звичай, характерні для оболонки із підвищеною експресією генів екпансину та високим вмістом цього білка (Cho, Kende, 1997, a; 1997, b; Kende *et al.*, 1998). До того ж, регуляція експресії екпансину супроводжується підкисленням апопла-

та в черешків листків *R. palustris* (Vreeburg *et al.*, 2005). В клітинній оболонці відбувається модифікація білків, включаючи й екпансини, які синтезуються саме при кислому рН (Cosgrove, 2000; Vreeburg *et al.*, 2005). Швидка регуляція апопластного рН забезпечує оптимальні модифікації активності апопласта.

Роль генів. У низькорослого рису стійкість до затоплення пояснюється експресією генів *SUB1A-1* та гену етилен чутливого фактора ERF (*ERF*, ethylene response factor) (Xu *et al.*, 2006). Ген *SUB1A-1* виявляє пролонговану стійкість до затоплення при активації інших генів, що зв'язані з анаеробним метаболізмом. Крім цього експресія гену *SUB1A-1* відбувається одночасно з інгібуванням експресії інших генів, що зв'язані з високо енергетичнозатратними процесами, такими, як ріст за участю екпансину (Fukao *et al.*, 2006). Експресія *SUB1A-1* індукується етиленом, що синтезується саме в рослині, яка росте під водою. Обмеження накопичення транскриптів екпансину шляхом експресії *SUB1A-1* призводить до пригнічення розтягу стебла та спокою рослини. Модифікація швидкості росту опосередкована модифікацією структури та складу клітинної оболонки в органах рослини, що знаходиться не тільки під водою, але й над водою. Регуляція може залучати не тільки активацію структурних білків оболонки, але й зміни в тканинах, чутливих до затоплення. Зокрема, коли міжвузля рису виходило з води в повітря, то швидкість його росту знижувалася.

Припускають, що зв'язок між зменшенням розтягу клітинної оболонки та вмістом екпансину опосередкований зниженням чутливості тканини до екпансинів, але не зниженням його функціонування (Sasayama *et al.*, 2009). Проте точний механізм змін клітинних оболонок за умов затоплення поки лишається невідомим. Зміни в складі та типі поперечних зв'язків між полісахаридами клітинної оболонки можуть бути обмеженими мобільністю екпансинів чи їхньою доступністю до полімеру-субстрату. Дослідження показало зміну здатності екпансинів зв'язуватися із целюлозою в залежності від складу геміцелюлоз, що вкривають мікрофібрили (McQueen-Mason, Cosgrove, 1995).

Склад оболонки. Склад оболонки також може визначати ефективність екпансинів у розтязі оболонки в умовах затоплення рослини. Безумовно, що зниження розтягу клітинних оболонок у сегментів підводних стебел рису після виходу з води на повітря корелює з відміченими змінами у складі клітинних оболонок. Зокрема, встановлено збільшення ксилози (нецелюлозного цукру) та таких пектинових кислот, як ферулова кислота (Sasayama *et al.*, 2009). Ферулова кислота має здатність утворювати поперечні зв'язки між полісахаридами клітинних оболонок, що може обмежувати мобільність екстенсину (Saulnier *et al.*, 1999). Додавання екзогенної ксилози до міжвузлів рису приводило до зниження чутливості екпансинів (Sasayama *et al.*, 2009). Відкладення ксилозо-збагачених полісахаридів можуть також змінювати склад клітинної оболонки, сприяючи обмеженню дії екпансину. Екзогенна дія ксилози на міжвузля рису - це також один із механізмів зниження ефективності дії екпансину.

Встановлено, що склад полісахаридів затоплених рослин відрізняється від такого у надводних органів, що було показано Літлом на стеблах *Ludwigia repens* (таблиця 2.5.1.1) (Little, 2003). Автором показано, що у підводних стеблах паралельно із суттєвим зниженням вмісту целюлози відмічено збільшення вмісту геміцелюлоз та лігніну.

ТАБЛИЦЯ 2.5.1.1. Вплив затоплення на біохімічні характеристики стебел *Ludwigia repens* (Little, 2003)

| Параметр | Стебла | |
|-------------------------------|----------|-----------------|
| | надводні | підводні |
| Кутикула епідермісу | Товста | Майже непомітна |
| Лігнін, мг/г сухої маси | 40 ± 3 | 68 ± 23 |
| Целюлоза, мг/г сухої маси | 193 ± 15 | 124 ± 23 |
| Геміцелюлоза, мг/г сухої маси | 91 ± 8 | 110 ± 15 |
| Крохмаль, мг/г сухої маси | 43 ± 15 | 118 ± 49 |
| Цукри, мг/г сухої маси | 30 ± 3 | 11 ± 6 |

Структура та роль кутикули. Зовнішні клітинні оболонки епідерми та продихи листків є першим бар'єром, першим транспортним шляхом для CO₂ та води, а також місцем контакту органів рослини з оточуючим середовищем. Кутикула оболонки епідерми листків мезофітів містить пори, через які відбувається як кутикулярна транспірація, так і поглинання води. Функціонування кутикулярних пор у повітряних листків залежить від температури та вологості повітря (Schönherr, 1982; 2006).

У затоплених рослин кутикула також синтезується в епідермі, а відкладається вона в периклінальних оболонках. У деяких видів вищих водних рослин (*Menta aquatica*, *Oenanthe aquatica*, *Rumex palustris*), стійких до повного затоплення, старі листки, які були до цього повітряними, найчастіше відмирають під водою, після чого під водою утворюються нові розсічені листки з іншою структурою клітин (Bruni et al., 1996; Rascio et al., 1999; Mommer, Visser, 2005) та зміненою структурою кутикули (Frost–Christensen et al., 2003; Frost–Christensensen, Floto, 2007). У кутикулі листків і стебел, які швидко ростуть розтягом під водою, відбувається прискорений гідроліз полімерів кутину (Hoffmann–Benning, Kende, 1992).

У водних рослин кутикула епідермісу листків та стебел спричиняє наявність зверхгідрофобності; саме ця властивість запобігає формуванню водної плівки на поверхні органів, занурених у воду, що значно знижує газообмін між поверхнею листка та газами, які розчинені у воді. Не дивлячись на те, що поглинання CO₂ для фотосинтезу знижено в затоплених рослинах, повітряний шар чи газова плівка на поверхні підводних листків продовжує виконувати газообмін O₂ та CO₂ через кутикулу із шару оточуючої води, і саме тому підводний фотосинтез та підводне дихання відбуваються на поверхні листків (в епідермальних клітинах) (Colmer, Pederson 2008). У більшості підводних листків повітряно-водних рослин

та листків справжніх гідрофітів продихи відсутні (Недуха, 2011; 2012). Транспортні функції в основному припадають на клітинні оболонки епідермісу листків і стебел.

У листків мезофітів, що ростуть на суходолі, кутикулярні пори діаметром від 0,45 до 1,18 нм виявлені у виступах кутикули периклінальних оболонок, в основі трихом та над антиклінальними оболонками епідермісу. При підвищенні температури повітря такі пори можуть утримувати воду в апопласті шляхом тимчасового закриття чи зникнення для припинення транспорту води через клітинні оболонки надземних органів (Schönherr, 1982; 1996; Schreber, Riederer, 1996; Kerstein, 1996).

Питання про наявність кутикулярних пор у клітинних оболонках епідермісу підводних листків та функціонування оболонок епідермальних клітин затоплених листків гідрофітів у транспортних процесах практично до останнього часу лишалося відкритим. Недавно ми провели дослідження по вивченню структури кутикули епідермальних клітин у підводних рослин (Недуха, 2010; 2011; 2013, а; Nedukha, 2013). Нижче наводимо дані експериментальних досліджень ультраструктури поверхні клітинних оболонок листків *Sagittaria sagittifolia*, *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton pectinatus* та *P. perfoliatus*.

Структура поверхні епідермісу листків *Sagittaria sagittifolia*

Надводні листки. Дослідження ультраструктури верхньої та нижньої поверхонь стрілоподібних листків у стрілолиста методом світлової та скануючої електронної мікроскопії показало, що листки належать до амфістоматичного типу. Клітини епідерми мають неправильну форму та вигнуті оболонки. Продихи розміщуються хаотично, поверхня епідермісу майже гладка (рис. 2.5.1.1). Спільними ознаками для верхньої й нижньої епідерми були тип (парацитний) і форма (овально-видовжена) продихів, наявність високого кутикулярного обідка по периметру епідермальних клітин і воскового нальоту на поверхні кожної клітини (рис. 2.5.1.1, а, б). Відмінності в структурних ознаках верхнього та нижнього епідермісу виявлені в розмірах клітин та кутикули, зокрема, клітини нижнього епідермісу були довші порівняно з верхніми, а розмір кутикулярних гребенів був меншим на нижній поверхні (табл. 2.5.1.2). Горбки воску мали овальну чи округлу форму, середній розмір яких становив 1049 ± 130 нм, щільність воскового нальоту на одну клітину – $30,7 \pm 2,4$ горбків; відсоток клітин із воском становив 100 %.

Підводні листки. Структура верхньої й нижньої поверхні підводних листків стрілолиста звичайного відрізнялася від структури надводних листків відсутністю на обох поверхнях продихів. Клітини мали видовжену форму (рис. 2.5.1.2, а, в), їх розмір по довгій осі був більшим, ніж у надводних листків. Клітинні оболонки на стиці суміжних клітин трохи припіднята, утворюють невисокий «гребінь» кутикули; висота й ширина кутикулярного гребеня в п'ять-шість разів менші, ніж у надводних листків (табл. 2.5.1.2). Крім того, на поверхні підводних листків практично відсутній восковий наліт. Часто на епідермі підводних листків спостерігаються водорості (рис. 2.5.1.2, а, в, г).

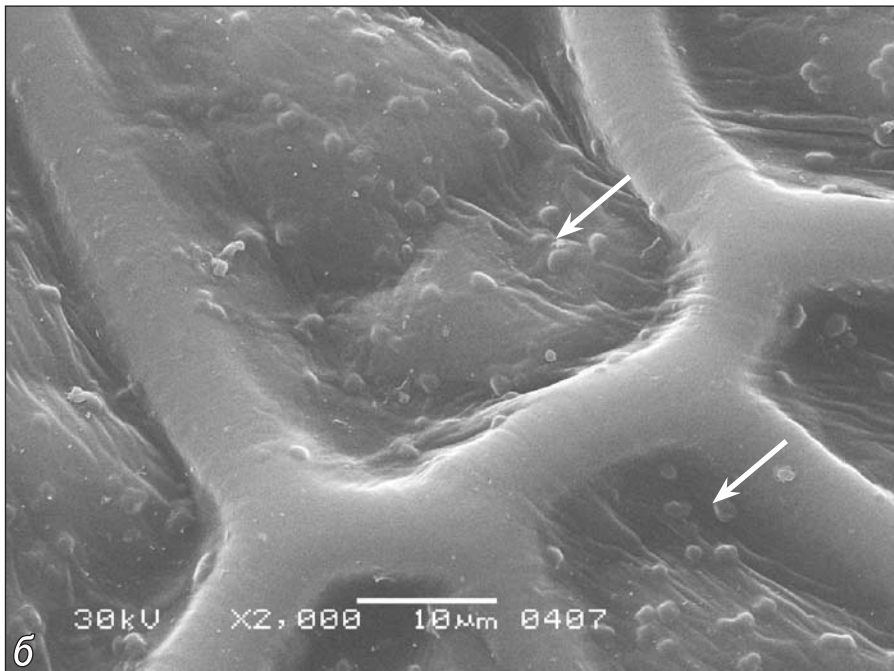


Рис. 2.5.1.1. Ультраструктура верхньої поверхні надводних стрілоподібних листків *Sagittaria sagittifolia*. На рисунку **а** видно продишки та кутикулярні гребні по периферії клітин (над антиклінальними оболонками), на рисунку **б** стрілками вказані горбки воскового нальоту (Недуха, 2011)

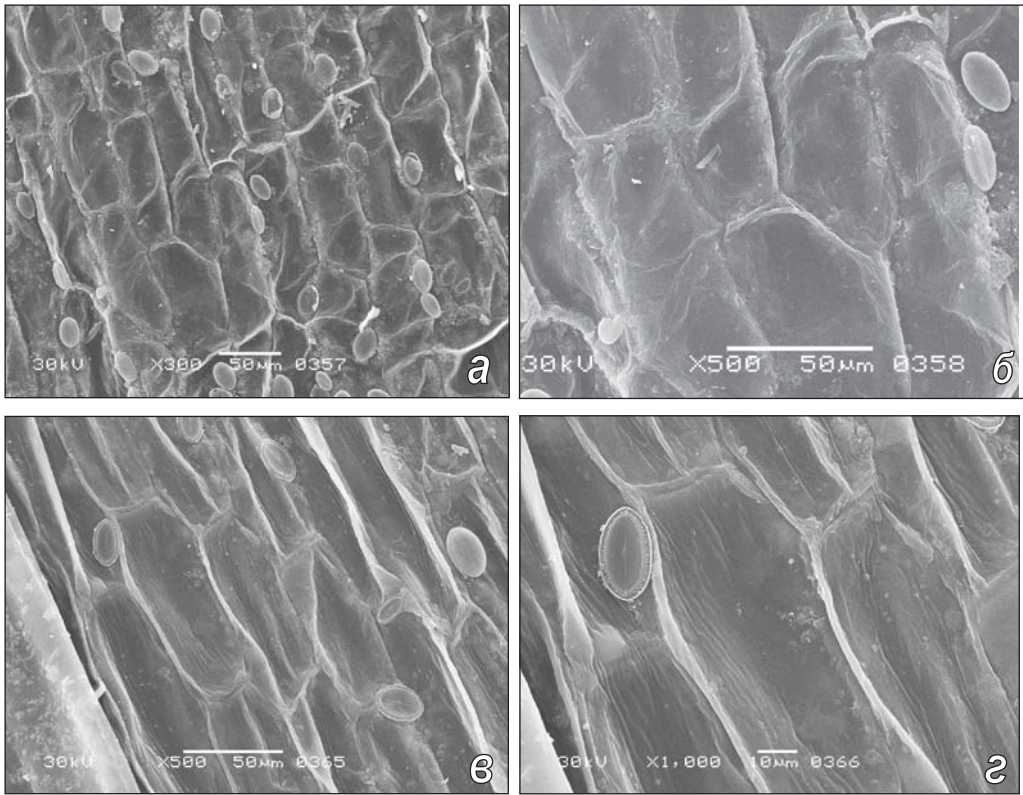


Рис. 2.5.1.2. Ультраструктура верхньої (а, б) і нижньої (в, г) поверхні підводних листків *Sagittaria sagittifolia*. Продихи в епідермісі відсутні; на верхній (а) та нижній епідермі (в, г) зустрічаються одноклітинні водорості (Недуха, 2011)

ТАБЛИЦЯ 2.5.1.2. Показники структури епідермальних клітин верхньої та нижньої епідерм надводних стрілоподібних і підводних видовжених листків *Sagittaria sagittifolia* за даними скануючої електронної мікроскопії (Недуха, 2011)

| Показник | Тип листка | |
|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| | Надводні стрілоподібні листки | Підводні лінійні листки |
| Верхня епідерма | | |
| Продихи: | | |
| тип | Парацитний | Відсутні |
| щільність на 1 мм ² | 85 ± 6 | – |
| довга вісь, мкм | 42,8 ± 3,1 | – |
| коротка вісь, мкм | 20,2 ± 4,4 | – |

Продовження табл. 2.5.1.2

| Показник | Тип листка | |
|---|----------------------------------|----------------------------|
| | Надводні стрілоподібні листки | Підводні лінійні листки |
| Епідермальні клітини: | | |
| довга вісь, мкм | 45,5 ± 3,9 | 109 ± 7,4* |
| коротка вісь, мкм | 35,0 ± 4,1 | 45 ± 1,7* |
| Висота кутикулярних гребенів по периметру основних епідермальних клітин, мкм | 5,5 ± 0,7 | 0,82 ± 0,2* |
| Кількість воскових горбків на клітину епідерми | 30,7 ± 5,1 | Не виявлено |
| Процент клітин із воском, % | 100 | – |
| Діаметр воскових горбків, нм | 1046 ± 130 | – |
| Нижня епідерма | | |
| Продихи: | | |
| тип | Парацитний | Відсутні |
| щільність 1 мм ² | 79 ± 55 | |
| довга вісь, мкм | 39,3 ± 3,1 | – |
| коротка вісь, мкм | 20,0 ± 2,7 | – |
| Епідермальні клітини: | | |
| довга вісь, мкм | 62,0 ± 3,9 | 106 ± 6,5* |
| коротка вісь, мкм | 36,3 ± 5,1 | 42 ± 2,9 |
| Висота кутикулярних гребенів по периметру основних епідермальних клітин, мкм | 4,9 ± 0,3 | 1,70 ± 0,14* |
| Кількість воскових горбків на клітину епідерми | 29,3 ± 5,1 | Не виявлено |
| Процент клітин із воском, % | 100 | – |
| Діаметр воскових горбків, нм | 1024 ± 100 | – |

Примітка: * $P \leq 0,05$ (При порівнянні ознак надводних і підводних листків)

Отже, порівняльний аналіз структури периклінальних та антиклінальних оболонок клітин епідерми підводних і надводних листків стрілолиста показав, що умови затоплення викликають зниження кутикулярних гребенів по периферії клітин – над антиклінальними оболонками та не спричиняють синтезу воску в клітинних оболонках. Відсутність воску на поверхні периклінальних оболонок підводних листків стрілолиста, можна пояснити дією екзогенних та ендогенних факторів. Нами показано, що інтенсивність освітлення на поверхні підводних листків майже на три порядки нижча, ніж на поверхні надводних листків (Недуха, 2011). Відомо, що віск, який утворюється на зовнішній стороні клітин епідерми, гальмує транспірацію та відбиває ультрафіолетові промені світла (Kerstiens, 1996). Ура-

ховуючі ці дані літератури, можна стверджувати, що в затоплених (підводних) листках стрілолиста звичайного відсутня транспірація та відбиття світла від поверхні пластинки.

Крім цього, необхідно відмітити, що недавно в епідермальних клітинах, збагачених воском, були ідентифіковані гени (*Ltp*, *LTPs* та *WAX9*), які відповідають за транскрипцію ліпідтранспортуючих білків. У разі експресії відповідних генів у клітинах епідермісу виявлено ефект накопичення відповідної мРНК (Clark, Bohnert, 1999). Як відбувається регуляція синтезу воску в епідермі поки невідомо. Ми можемо лише припустити, що його відсутність (в епідермі підводних листків), може бути наслідком генетичної пластичності, в результаті якої відбувається інгібування синтезу попередників воску (C_{12} -, C_{14} - і C_{16} - ω -гідроксизирних кислот) і віск-синтетази (fatty acyl-coenzyme A: fatty alcohol acyltransferase) (Hauke, Schreiber, 1998; Lardizabal et al., 2000).

Ультроструктура клітинних оболонок епідермісу листків *Sagittaria sagittifolia*

Дослідження ультроструктури клітин епідерми й мезофілу листків стрілолиста звичайного методом трансмісійної електронної мікроскопії показало певні відмінності в структурі клітинних оболонок між надводними та підводними листками.

Надводні листки. Зовнішні (периклінальні) оболонки клітин адаксіального епідермісу повітряних листків стрілолиста звичайного мали ширину біля 1,5 мкм та до 2, 5 мкм – у зоні антиклінальних оболонок. Такі оболонки характеризувались шаруватістю (рис. 2.5.1.3, а): зовнішній шар товщиною до 0,1 мкм містив електроннощільну кутикулу, середній пекто-целюлозний шар товщиною 1,2 – 1,5 мкм характеризувався також електронною щільністю, тоді як внутрішній шар (0,2 мкм завтовшки) мав знижену електронну щільність мікрофібрил целюлози. Клітинні оболонки мезофілу тонкі (до 0,2-0,3 мкм шириною), з типовою пекто-целюлозною структурою (рис. 2.5.1.3, в).

Підводні листки. Периклінальні оболонки верхньої та нижньої епідерми підводних листків стрілолиста звичайного за структурою відрізнялись від таких у повітряних листків стрілолиста зниженням товщини оболонок удвічі, ослабленням електронної щільності та наявністю розпушення мікрофібрил целюлози (рис. 2.5.1.3, б), тоді, як у клітинних оболонках мезофілу відмічено посилення електронної щільності структур середньої пластинки та первинної оболонки, що контактує з міжклітинним простором (рис. 2.5.1.3, в-д).

Дослідження вмісту полісахаридів клітинних оболонок у надводних і підводних листках *Sagittaria sagittifolia*

Біохімічними методами було визначено вміст целюлози, лігніну, геміцелюлоз, пектину та протопектину в надводних та підводних листках *S. sagittifolia* на фазі вегетативного росту. Показано, що підводні умови викликають зміни у вмісті полісахаридів листків: збільшення удвічі вмісту лігніну, геміцелюлоз – в 2,6 раза та протопектину – в 3,7 раза; тоді як вміст целюлози та пектину був меншим в 1,3 та 4 рази, відповідно, у порівнянні із надводними листками (рис. 2.5.1.4).

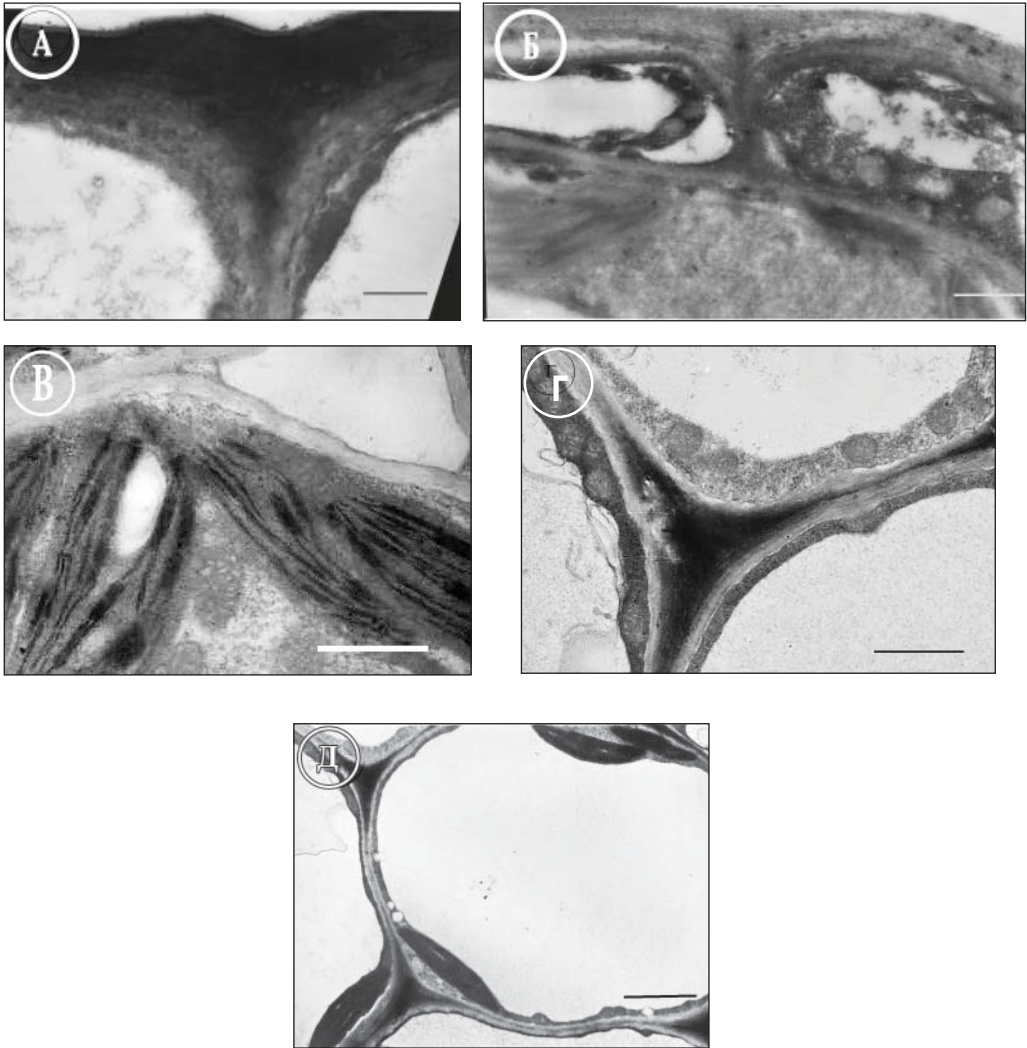


Рис. 2.5.1.3. Фрагменти клітин епідермісу (а, б) і мезофілу (в-д) надводних (а, в) та підводних (б, г, д) листків *Sagittaria sagittifolia*. У підводних листків клітинні оболонки епідермісу тонші й розпушені; серединна пластинка оболонок мезофілу характеризується підвищеною електронною щільністю. Реперна мітка = 1 мкм

Подібне підвищення вмісту лігніну та геміцелюлоз раніше виявлено в підводних стеблах *Ludwigia repens* при порівнянні з надводними стеблами (Little, 2003). Таким чином, відмінності вмісту геміцелюлоз і целюлози підводних листків *S. sagittifolia* певним чином узгоджуються із змінами ультраструктури клітинних оболонок (розпушенням та зниженням товщини) у досліджуваного виду.

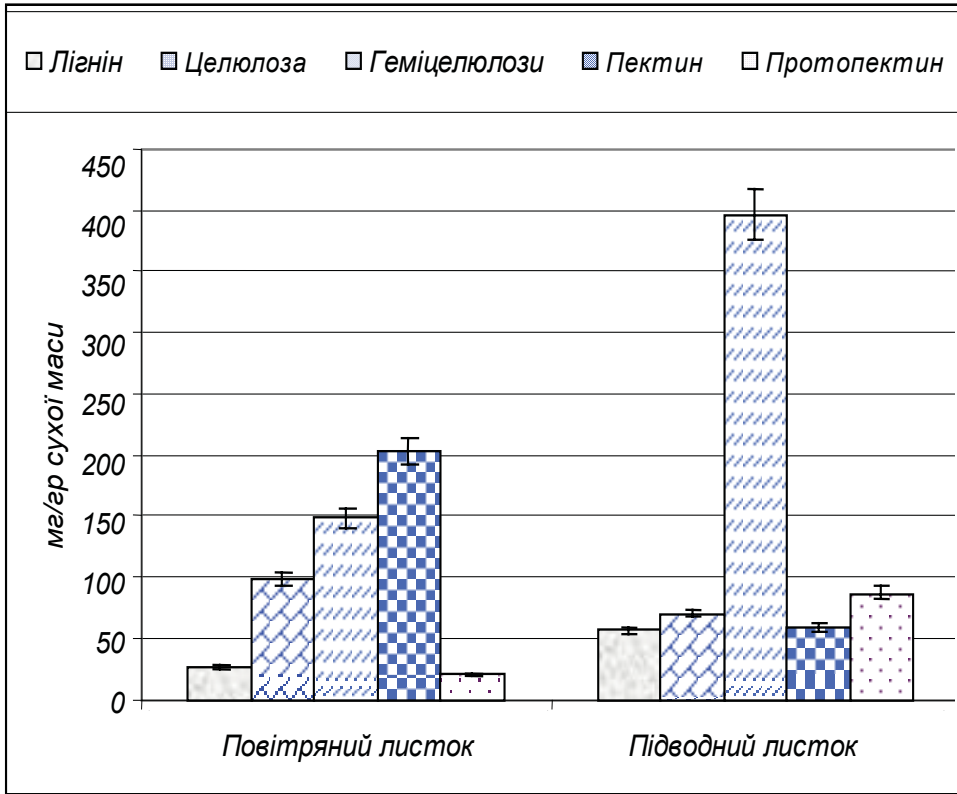


Рис. 2.5.1.4. Вміст полісахаридів у клітинних оболонках повітряних та підводних листках *Sagittaria sagittifolia*

Отже, методом трансмісійної електронної мікроскопії нами встановлено суттєві відмінності в ультраструктурі й товщині клітинних оболонок підводних та надводних листків досліджуваного виду *S. sagittifolia*. Такі відмінності виявилися тканино специфічними: в епідермісі периклінальні оболонки ставали тоншими та розпушеними, тоді як оболонки, зокрема міжклітинників фотосинтезуючих паренхімних клітин листків, занурених у воду, ставали електроннощільними. Механізм формування тонких клітинних оболонок у різних тканинах рослин пояснюють змінами тургору клітини та зменшенням активності синтеза, що беруть участь у синтезі полісахаридів оболонок (Cosgrove, 1998). Щодо розпушення клітинних оболонок, то існує багато моделей цього процесу. Першу гіпотезу про кислотно-індукований механізм розпушення було запропоновано Клеландом та Ройлі (Cleland, 1983; Rayle, Cleland, 1992). Пізніше було показано, що гідроліз полісахаридів при розпушенні – це комплексний процес, в якому ферментативний гідроліз полісахаридів матриксу оболонок відбувається за участі ендоглюканаз та експансинів. Останні не гідролізують полісахариди, а індукують розтяг і збільшують пластичність оболонок в залежності від рН апопласту (Cosgrove, 1998; 2001). Крім того, ефекторами розпушення оболонок виступають фітогормони. Встановлено, що один із механізмів розпушення клі-

тинних оболонку у стебел вищих рослин полягає в участі брасиностероїдів, які, регулюючи експресію генів білків розпушення, а саме, ксилоглюканендотрансглюкозилаз (Clouse, 1997; Wada, Katsumi, 2005).

Відомо, що саме потоншений шар кутикули та наявність пор або розпушень у зовнішніх оболонках епідерми підводних листків сприяє оптимальному транспорту газів та води в листках в умовах затоплення рослин (Недуха, 2011). Враховуючи отримані нами дані про відмінності в ультраструктурі епідермальних клітинних оболонку листків, занурених у воду, у *S. sagittifolia*, можна припустити, що розпушена структура периклінальних тонких клітинних оболонку епідермісу підводних листків є наслідком зниженого тургору епідермальних клітин, активації гідролаз та екпансинів, а також участі брасиностероїдів для оптимального функціонування транспортних процесів між листком та оточуючим водним середовищем. Ці структурні пристосування, очевидно, можна розглядати як адаптаційні ознаки підводних листків до існування у водному середовищі в умовах зміни як вмісту, так і швидкості транспорту розчинених у воді іонів та газів (CO_2 , O_2 , HCO_3).

Відомо, що лігніфікація клітинних оболонку паренхімних клітин і клітин провідних пучків у мезофітів починається саме в кутках клітин та в серединній пластинці, що заповнена пектиновими речовинами; ці зони починаються збагачуватися гідроксифеніловими та гваяциловими одиницями (Boudet, 2001), а також і фенолами (кумаровою та феруловою кислотами), які служать якорем для синтезу лігніну (Lai *et al.*, 1999). Крім того, методом імунної цитохімії також доказано наявність лігніну у електроннощільних зонах серединної пластинки клітин тютюну (Chabannes *et al.*, 2001). Враховуючи одержані нами дані про більший вміст лігніну в оболонках підводних листків досліджуваного гідрофіта та наявність електронних ущільнень в міжклітинниках і кутках фотосинтезуючих паренхімних клітин підводних листків стрілолиста звичайного, та наведені вище дані літератури, можна зробити припущення, що ущільнення між паренхімними клітинами у підводних листків є наслідком посиленого відкладу там лігніну, що також підтверджується і біохімічними даними по збільшенню вмісту лігніну в підводних листках стрілолиста звичайного.

Клітинні оболонки епідермісу листків *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton pectinatus* та *P. perfoliatus*

Методами скануючої та трансмісійної електронної мікроскопії досліджували підводні листки водопериці колосистої (*Myriophyllum spicatum*), рдесника гребінчастого (*Potamogeton pectinatus*) та рдесника пронизанолистого (*Potamogeton perfoliatus*), що зростали на р. Дніпро (біля Києва) на стадії вегетативного росту (Недуха, 2010, Nedukha, 2010). Вивчення ультраструктури поверхні епідермісу підводних листків досліджуваних видів методом СЕМ показало відсутність продихів в епідермісі листків досліджуваних видів рослин (рис. 2.5.1.5, а, г, є) та відмінності в структурі оболонку (табл. 2.5.1.3; рис. 2.5.1.5). Ультраструктура поверхні листків була специфічною у кожного виду. По-

верхня епідермісу листків *M. spicatum* була вкрита суцільним, нерівномірним за висотою шаром кутикули, окремі епідермальні клітини не розрізнялись (рис. 2.5.1.5, а). В епідермісі спостерігали наявність конусоподібних пор (рис. 2.5.1.5, а та а', стрілки), зовнішній діаметр яких коливався від 3 до 5 мкм. Пори розміщувались нерівномірно, на відстані від 15 до 25 мкм одна від одної.

Епідерміс листків *P. pectinatus* був укритий майже паралельними гребнями кутикули (рис. 2.5.1.5, з), висота яких коливалась від 1,5 до 5 мкм, довжина – від 12 до 45 мкм. Внаслідок суцільного шару кутикули межі окремих клітин не розрізнялися, тоді як клітини епідермісу листків *P. perfoliatus* (рис. 2.5.1.5, є) мали чіткі межі. Клітини прямокутної форми, по краях клітин розміщувались кутикулярні гребні висотою та шириною до 4 мкм.

Таким чином, ультраструктура поверхні підводних листків трьох видів гідрофітів характеризувалась стабільними та пластичними ознаками. Наявність кутикули на поверхні епідермісу та відсутність продихів були стабільними ознаками, локалізація ж та розміри кутикулярних гребенів – мінливими ознаками.

ТАБЛИЦЯ 2.5.1.3. Параметри зовнішніх клітинних оболонок епідермісу підводних листків *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton pectinatus* та *Potamogeton perfoliatus* (n= 45-60) за даними трансмісійної електронної мікроскопії

| Ознака | <i>M. spicatum</i> | <i>P. pectinatus</i> | <i>P. perfoliatus</i> |
|-----------------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|
| Ширина оболонок, мкм | 1,5 ± 0,4 | 4,6 ± 0,4*** | 2,7 ± 0,5* |
| Ширина кутикули, нм | 250 ± 30 | 100 ± 10*** | 50 ± 4** |
| Ширина кутикулярних пор, нм | 20 ± 4 | 17 ± 3 | 4,5 ± 0,5** |

Примітка: параметри епідермальних клітин листків *P. perfoliatus* та *P. pectinatus* достовірно відрізнялись (*P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.001) від параметрів клітин *M. spicatum* (Nedukha, 2010)

Крім відмінностей у структурі оболонок, ще виявлені суттєві відмінності й в ультраструктурі хлоропластів (Недуха, 2010). Для клітин епідермісу листків *M. spicatum*, *P. pectinatus* та *P. perfoliatus* спільними ознаками були: наявність хлоропластів із великою кількістю гран (від 20 до 52 на зріз) та тилакоїдів у гранах (до 53) (рис. 2.5.1.5, б, в, д, ж), гранулярний каналікулярний ендоплазматичний ретикулум, численні рибосоми, тришаровість клітинних оболонок, в яких розрізнявся зовнішній шар кутикули, основний пектоцелюлозний та периплазматичний шари (рис. 2.5.1.5, в, д, ж). Відмінними ознаками клітинних оболонок були структура та товщина зовнішніх оболонок та їх шарів (табл. 2.5.1.3). Хлоропласти досліджуваних видів відрізнялись за кількістю тилакоїдів у грані, кількістю гран на зріз хлоропласту, наявністю чи відсутністю крохмалю, розміром крохмальних

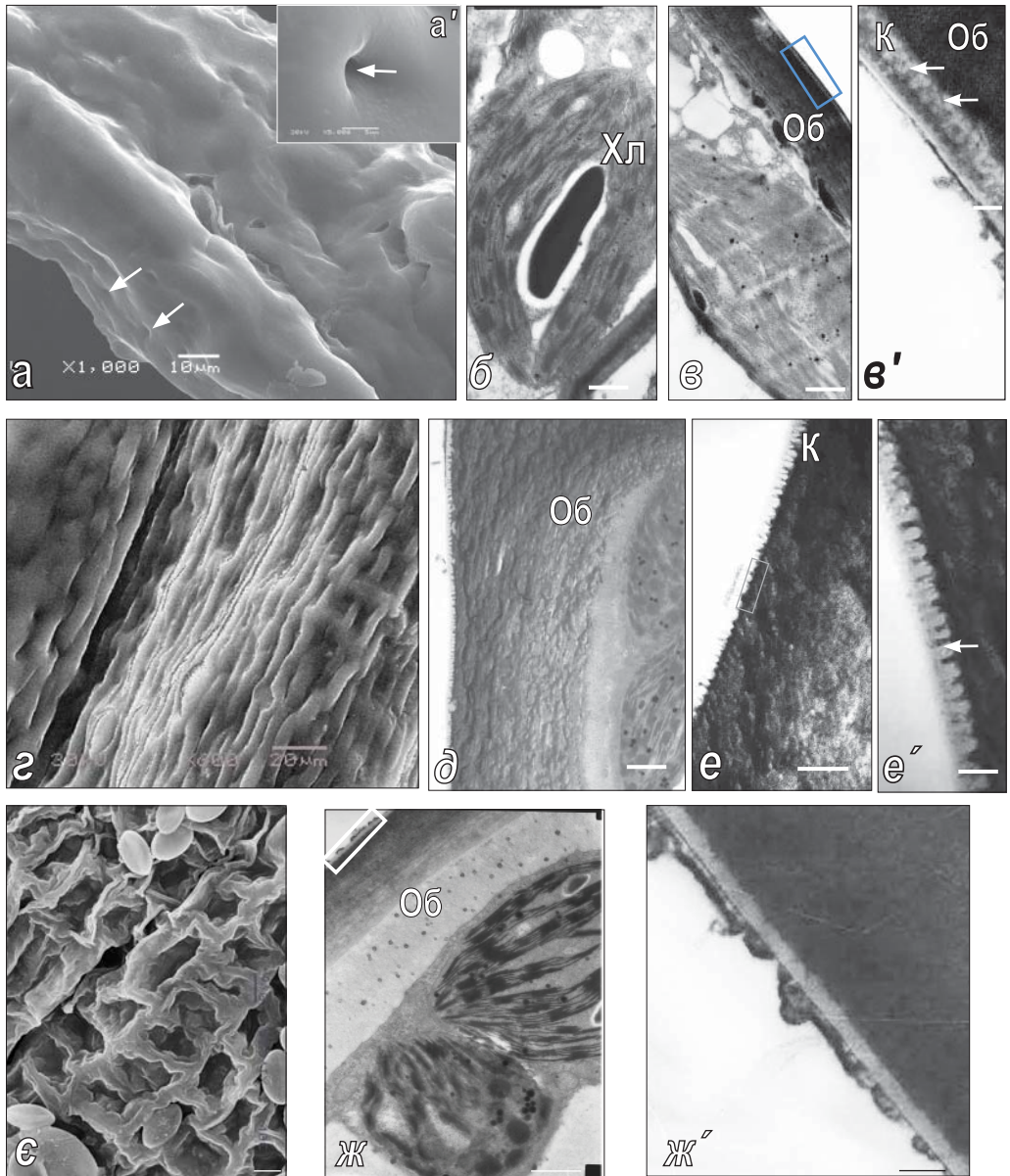


Рис. 2.5.1.5. Клітини епідермісу підводних листків *Myriophyllum spicatum* (а - е'), *Potamogeton pectinatus* (з - е') та *Potamogeton perfoliatus* (е - ж'). Гребені кутикули вкривають поверхню листків (а, з, е), на рис. а та а' стрілки вказують на конусовидні пори; скануюча електронна мікроскопія. На рис. в', е' та ж' представлені збільшені фрагменти кутикули обведені прямокутником в оболонці на рис. в, е та ж, відповідно. Кутикулярні пори вказані стрілками (в', е' та ж'); трансмісійна електронна мікроскопія. К – кутикула, Об – клітинна оболонка, Хл – хлоропласт. Масштаб = 10 мкм (а, з, е); = 5 мкм (а'); = 1 мкм (б, в, д, ж); = 100 нм (рис. в', е, е', ж')

зерен та пластоглобул; мітохондрії варіювали за щільністю матриксу та кількістю крист на зрізах. Конденсований тип мітохондрій спостерігали в клітинах *Potamogeton pectinatus* та *P. perfoliatus*. На поперечних зрізах клітин епідермісу виявлені кутикулярні пори (рис. 2.5.1.5, в', е, е' та ж'). Середня довжина кутикулярних пор у клітинах епідермісу *M. spicatum* становила біля 130 нм; щільність пор ~ 12-15 на площі в 1 мкм² протяжності кутикули; у клітинах *P. pectinatus* – довжина пор у залежності від площини зрізу коливалась від 80 до 100 нм, середня щільність пор ~ 20 на 1 мкм² протяжності кутикули; у *P. perfoliatus* - кутикулярні пори мали слабку контрастність, були ледь помітними у вигляді округлих електронно прозорих структур діаметром 4-5 нм.

Таким чином, вперше описані кутикулярні пори в зовнішніх оболонках клітин епідермісу підводних листків гідрофітів *M. spicatum*, *P. pectinatus* та *P. perfoliatus*, що зростали на р. Дніпро. Одержані дані щодо наявності та структури хлоропластів у клітинах епідермісу досліджуваних гідрофітів узгоджуються з даними по фотосинтезу підводних листків (Некрасова и др., 2003). Ми вважаємо, що наявність кутикулярних пор у клітинних оболонках епідермісу підводних листків досліджуваних гідрофітів є важливою адаптаційною структурною ознакою видів до підводного існування.

2.5.2. Роль целюлози

У попередньому розділі показано, що у затоплених рослин адаксіальні оболонки клітин епідермісу характеризуються розпушеною, нещільною структурою, в якій можна розгледіти пучки та окремі мікрофібрили целюлози. Разом з цим, біохімічні дослідження адаптації стебел *Ludwigia repens* до підводного росту показали, що одночасно із прискореним ростом затоплених стебел *L. repens* вміст целюлози у клітинних оболонках був меншим, ніж у надводних органів в 1,6 раза (Little, 2003).

З іншого боку, у більшості затоплених рослин у листках продихи відсутні, або ж вони не функціонують (Недуха, 2011); частину транспортних функцій (по апопласту) між листком та водним середовищем виконують саме клітинні оболонки епідермісу. Вода адсорбується аморфними зонами целюлози, у яких домінують водневі зв'язки (Brown, 1996). Кристалічна складова мікрофібрил целюлози не бере участі в транспорті чи поглинанні водних молекул. Перший етап адсорбції молекул води відбувається в шостому гідроксилі (6-ОН) одного з ланцюгів молекули аморфної целюлози; другий етап – це зв'язування молекул води між ланцюгами молекул целюлози в одній мікрофібрилі, тобто вода адсорбується між двома ланцюгами аморфної целюлози, та 3^{ій} етап – коли вода приєднується до молекул води, які вже зв'язані з аморфною формою мікрофібрил целюлози (Czihak et al., 1999; Nilsson Martin, 2006).

Враховуючи вищезазначені дані літератури, ми висунули гіпотезу, що однією із ознак адаптації рослини до затоплення повинна бути не тільки відмінність у вмісті целюлози, але й переважання синтезу її аморфної форми. Оптимальним прикладом такої адаптації до затоплення можуть бути дані порівняльних структурно-функціональних досліджень це-

люлози у рослин, у яких є підводні та надводні листки, зокрема, *Sium latifolium* та *Sagittaria sagittifolia*, а також листки гідрофітів, що ростуть тільки під водою: *Potamogeton perfoliatus*, *P. pectinatus* та *Myriophyllum spicatum*.

Повітряно-водна та суходільна форма *Sium latifolium*, фаза вегетативного росту

Підводні та надводні листки повітряно-водних рослин. Дослідження розподілу целюлози, проведене цитохімічним методом за стандартним протоколом (Herth, 1980) із використанням конфокального лазерного скануючого мікроскопа LSM 5 PASCAL, а також методом біохімічного визначення вмісту аморфної та кристалічної целюлози у підводних та повітряних листках вежу широколистою показало суттєві відмінності у відібраних показниках (Nedukha, 2008; Недуха, 2010).

Цитохімічне дослідження локалізації целюлози в листках водного еко типу вежу широколистою (рис. 2.5.2.1) показало, що целюлоза флуоресціювала зеленим кольором у оболонках адаксіального та абаксіального епідермісу, палісадної та губчастої паренхіми.

У зовнішніх оболонках епідермісу флуоресценція комплексу виявлялась по всій поверхні клітин; в антиклінальних оболонках епідермісу та оболонках мезофілу флуоресценція целюлози простежувалася вздовж оболонок. Проте, інтенсивність флуоресценції целюлози відрізнялась у підводних та надводних листках. Величини інтенсивності флуоресценції комплексу калькофлуор+целюлоза представлені в табл. 2.5.2.1 та на рис. 2.5.2.1, ж' (гістограма). Згідно з отриманими даними інтенсивність флуоресценції у оболонках верхньої та нижньої епідерми підводних листків була достовірною нижчою (табл. 2.5.2.1), ніж така у надводних листків та листків рослин, що росли на суходолі. У клітинах палісадної та губчастої паренхіми її значення були вищі в підводних листків.

Біохімічний аналіз показав, що вміст целюлози в затоплених листках та в листках, що вийшли з водного середовища, був високим. Встановлено, що вміст аморфної целюлози у листках коливався від 61 до 67 %; вміст кристалічної целюлози був майже вдвічі нижчим (табл. 2.5.2.2). Відношення аморфної целюлози до кристалічної у підводних та надводних листках було досить високим і коливалось від 1,93 до 2,06.

Листки суходільних рослин. Цитохімічний аналіз розподілу целюлози в клітинних оболонках цільних та перисторозсічених листків суходільного еко типу вежу показав, що комплекс калькофлуор+целюлоза флуоресціював зеленим кольором у оболонках адаксіального та абаксіального епідермісу, палісадної та губчастої паренхіми (рис. 2.5.2.1, е, є). У клітинних оболонках флуоресценція комплексу калькофлуор-целюлоза була суцільною. Інтенсивність флуоресценції целюлози представлені в таблиці 2.5.2.1 та на рисунку 2.5.2.1, з' (гістограма). Згідно з отриманими даними інтенсивність флуоресценції в зовнішніх клітинних оболонках адаксіальної та абаксіальної епідерми листків була достовірною вищою, ніж така в клітинах палісадної та губчастої паренхіми (табл. 2.5.2.1).

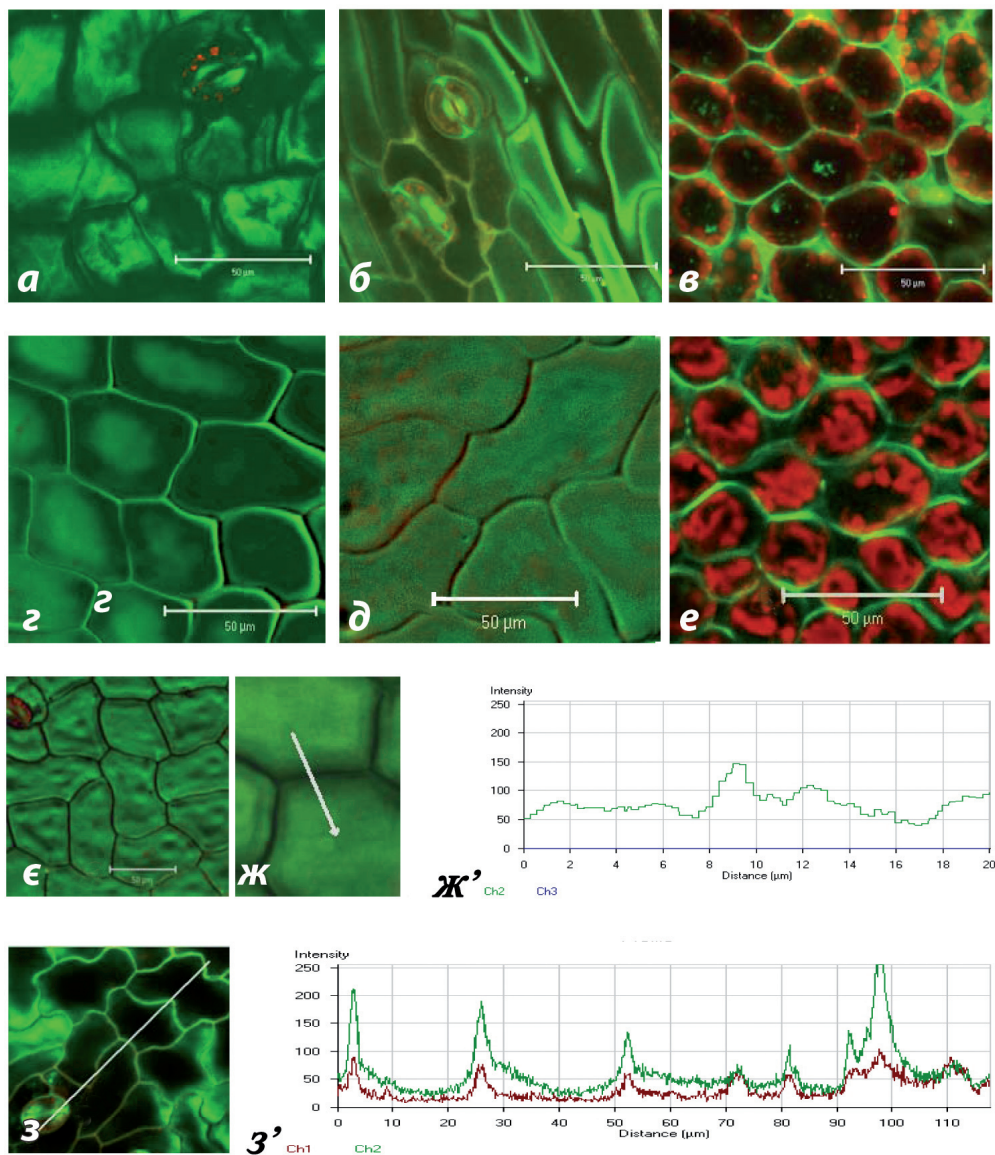


Рис. 2.5.2.1. Клітини епідермісу (а, б, г, д, е, ж, з) та мезофілу (е, е) листків повітряно-водних (а-д, ж, з) та суходільних (е, е) рослин *Sium latifolium* після інкубації у розчині калькофлуору (кф). Комплекс целюлоза + кф. флуоресцює зеленим кольором, автофлуоресценція хлорофілу червоного кольору. **ж', з'** – гістограми інтенсивності флуоресценції комплексу целюлоза + кф. (зелена крива) та автофлуоресценції хлорофілу (червона крива). По горизонталі – відстань (мкм), яка була просканована, позначена білою стрілкою (ж, з), по вертикалі - інтенсивність флуоресценції в умовних одиницях. Масштаб = 50 мкм (Недуха, 2011)

ТАБЛИЦЯ 2.5.2.1. Відносний вміст целюлози целюлози у клітинних оболонках листків повітряно-водного екотипу *Sium latifolium* у фазі вегетативного росту (Недуха, 2010, а)

| Клітинна оболонка/тканина | Інтенсивність флуоресценції целюлози в клітинних оболонках різних листків, відн. од. | | |
|---------------------------|--|-----------------|-------------------------------|
| | повітряно-водних рослин | | суходільних рослин |
| | підводні листки | надводні листки | листки із цілісною пластинкою |
| Адаксіальний епідерміс | | | |
| периклінальна оболонка | 86,36 ± 5,09 | 148,39 ± 10,60* | 135,77 ± 10,19* |
| антиклінальна оболонка | 62,14 ± 4,34 | 107,17 ± 9,09* | 87,24 ± 4,34* |
| Абаксіальний епідерміс | | | |
| периклінальна оболонка | 82,00 ± 1,08 | 129,00 ± 10,74* | 245,00 ± 9,08* |
| антиклінальна оболонка | 48,02 ± 3,24 | 84,00 ± 7,06* | 105,92 ± 8,24* |
| Палісадна паренхіма | 142,83 ± 10,01 | 90,83 ± 4,01* | 115,83 ± 10,01* |
| Губчаста паренхіма | 100,84 ± 13,09 | 58,42 ± 3,09* | 49,84 ± 4,09* |

* $P \leq 0,05$ - Достовірно відрізняються від значень у клітинних оболонках підводних листків

ТАБЛИЦЯ 2.5.2.2. Вміст целюлози в листових пластинках повітряно-водних та суходільних рослин *Sium latifolium* у фазі вегетативного росту (Недуха, 2010, а)

| Целюлоза | Вміст целюлози у різних листках веху | | |
|--|--------------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| | повітряно-водних рослин | | суходільних рослин |
| | у підводних листках | у надводних листках | у листках із цілісною пластинкою |
| Загальний вміст целюлози, мг г ⁻¹ сухої маси, % | 95,40 ± 1.82 (100 %) | 79,70 ± 3.14 (100 %) | 141,40 ± 3,82 (100 %) |
| Вміст аморфної целюлози, мг г ⁻¹ сухої маси, % | 63,94 ± 8.80 (66,9%) | 52,32 ± 6.55 (65,6 %) | 71,04 ± 8.80 (53,3 %) |
| Вміст кристалічної целюлози, мг г ⁻¹ сухої маси, % | 31,01 ± 3.14 (33,1%) | 27,09 ± 2.02 (34,4 %) | 69,01 ± 3.14 (49,7 %) |
| Відношення вмісту аморфної целюлози до кристалічної | 2,06 | 1,93 | 1,02 |

За результатами біохімічного аналізу загальний вміст целюлози у листках суходільних рослин був в 1,3-1,5 раза вищим, ніж у підводних листків повітряно-водних рослин (табл. 2.5.2.2). Листки суходільних рослин містили удвічі більше кристалічної целюлози в порівнянні з підводними листками та надводними в повітряно-водних рослин. Крім того, відношення вмісту аморфної до кристалічної форми целюлози також було майже удвічі нижчим, ніж таке в підводних та надводних листках повітряно-водних рослин (Недуха, 2010, а).

Таким чином, цитохімічні та біохімічні дослідження розподілу та складу целюлози в клітинах листків показали, що целюлоза є чутливим полісахаридом клітинної оболонки, її вміст і склад у період вегетативного росту змінювалися залежно від оточуючих умов еко типу. Порівняльний аналіз вмісту целюлози у затоплених листках і надводних листках повітряно-водної, а також в листках суходільної форми веху на стадії вегетативного росту показав, що ріст листків під водою сприяє уповільненню синтезу целюлози. Відомо, що інтенсивність синтезу целюлози залежить від вмісту її попередників (глюкози), активності целюлозосинтеза та активації генів із родини *CesA* (Richmond, Somerville, 2000). Автор припускає, що у затоплених листках знижений вміст целюлози в період вегетативного росту зумовлюється послабленим синтезом глюкози та інгібуванням відповідних генів (Недуха, 2011).

Збільшення вмісту аморфної целюлози в затоплених листках у порівнянні з листками рослин, що росли на суходолі, автори пояснюють тим, що в затоплених рослин високий вміст аморфної целюлози, очевидно, сприяє акумуляції води та її транспорту по апопласту. Крім того, у ході досліджень виду петунії та мутанта *Petunia hybrida* за геном *PhEXP1* встановлено, що мутантний алель *RSW1* відповідає за синтез аморфної целюлози (Zenoni et al., 2004). Враховуючи ці дані, автор припускає, що збільшення вмісту аморфної целюлози у підводних листках зумовлено генетичними відмінностями, і є адаптаційною функціональною ознакою затоплених рослин (Недуха, 2011).

***Sagittaria sagittifolia*, фаза вегетативного росту**

Повітряні стрілоподібні листки. Цитохімічний аналіз целюлози в листках стрілолиста звичайного показав зелену флуоресценцію в оболонках адаксіального та абаксіального епідерміса, а також у клітинах мезофілу (рис. 2.5.2.2, а-в). Інтенсивність флуоресценції комплексу целюлоза+калькофлуор була різною в тканинах (табл. 2.5.2.3; рис. 2.5.2.2, е). Зовнішні оболонки епідермісу та оболонки замикаючих клітин продохів характеризувалися високою інтенсивністю флуоресценції целюлози. Максимум інтенсивності флуоресценції для целюлози в абаксіальному епідермісі становив 25000 пікселей (зелена лінія), для автофлуоресценції хлорофілу – 150000 пікселей (червона лінія) (рис. 2.5.2.2, ж).

Вміст целюлози у надводних листках за біохімічним аналізом (табл. 2.5.2.4) був нижчим, ніж вміст геміцелюлоз та пектину, і становив $86 \pm 5,9$ мг/гр сухої маси.

Підводні листки. Аналогічно до надводних листків, цитохімічний аналіз показав зелену флуоресценцію комплексу целюлоза+калькофлуор у клітинних оболонках епідермісу

та фотосинтезуючої паренхіми підводних листків *S. sagittifolia* (рис. 2.5.2.2, з, д). Виявлені відмінності в інтенсивності флуоресценції целюлози в оболонках епідермісу та фотосинтезуючої паренхіми. Відносна інтенсивність флуоресценції представлена в табл. 2.5.2.3 та на рис. 2.5.2.2, є, є' (гістограма).

Показано, що інтенсивність люмінесценції целюлози варіювала: вона була удвічі нижчою у епідермісі затоплених листків у порівнянні із надводними листками. У той же час, інтенсивність люмінесценції в оболонках фотосинтезуючої паренхіми була трохи вищою, ніж в оболонках губчастого мезофілу та нижчою в 1,5 раза у порівнянні із оболонками палисадної паренхіми надводних листків. Необхідно відмітити, що відносний вміст целюлози в антиклінальних оболонках епідерми затоплених листків завжди був вищим, ніж в периклінальних. Встановлено, що максимум інтенсивності флуоресценції целюлози в епідермальних оболонках був нижчим, ніж у надводних, і становив 20000 пікселей (рис. 2.5.2.2, з), максимум для автофлуоресценції хлорофілу був нижчим, ніж у надводних листках, і становив 100000 пікселей.

Біохімічне визначення вмісту целюлози в підводних листках стрілолиста показало зменшення в порівнянні з таким у надводних листках (табл. 2.5.2.4).

Отже, цитохімічний аналіз розподілу та відносного вмісту целюлози в епідермісі листків *S. sagittifolia* показав, що інтенсивність флуоресценції целюлози залежить від типу оболонки: в периклінальних оболонках підводних листків відносний вміст целюлози був меншим, ніж в таких же оболонках надводних листках.

ТАБЛИЦЯ 2.5.2.3. Відносний вміст целюлози в надводних та підводних листках *S. sagittifolia*

| Вид / тканина / клітинна оболонка | Інтенсивність флуоресценції целюлози, відн. од | |
|--|--|-----------------|
| | Надводні листки | Підводні листки |
| Адаксіальний епідерміс (або ж епідерміс підводних листків) | | |
| периклінальна оболонка | 99 ± 9 | 41 ± 3,7** |
| антиклінальна оболонка | 146 ± 13 | 69 ± 5,7** |
| Продихи | | |
| клітинна оболонка пори | 45 ± 3,9 | Відсутні |
| периклінальна оболонка замикаючих клітин | 52 ± 3,7 | - |
| антиклінальна оболонка замикаючих клітин | 113 ± 11 | - |
| Абаксіальний епідерміс | | |
| периклінальна оболонка | 30 ± 3,7 | 25 ± 1,7 |
| антиклінальна оболонка | 112 ± 11 | 65 ± 3,9** |

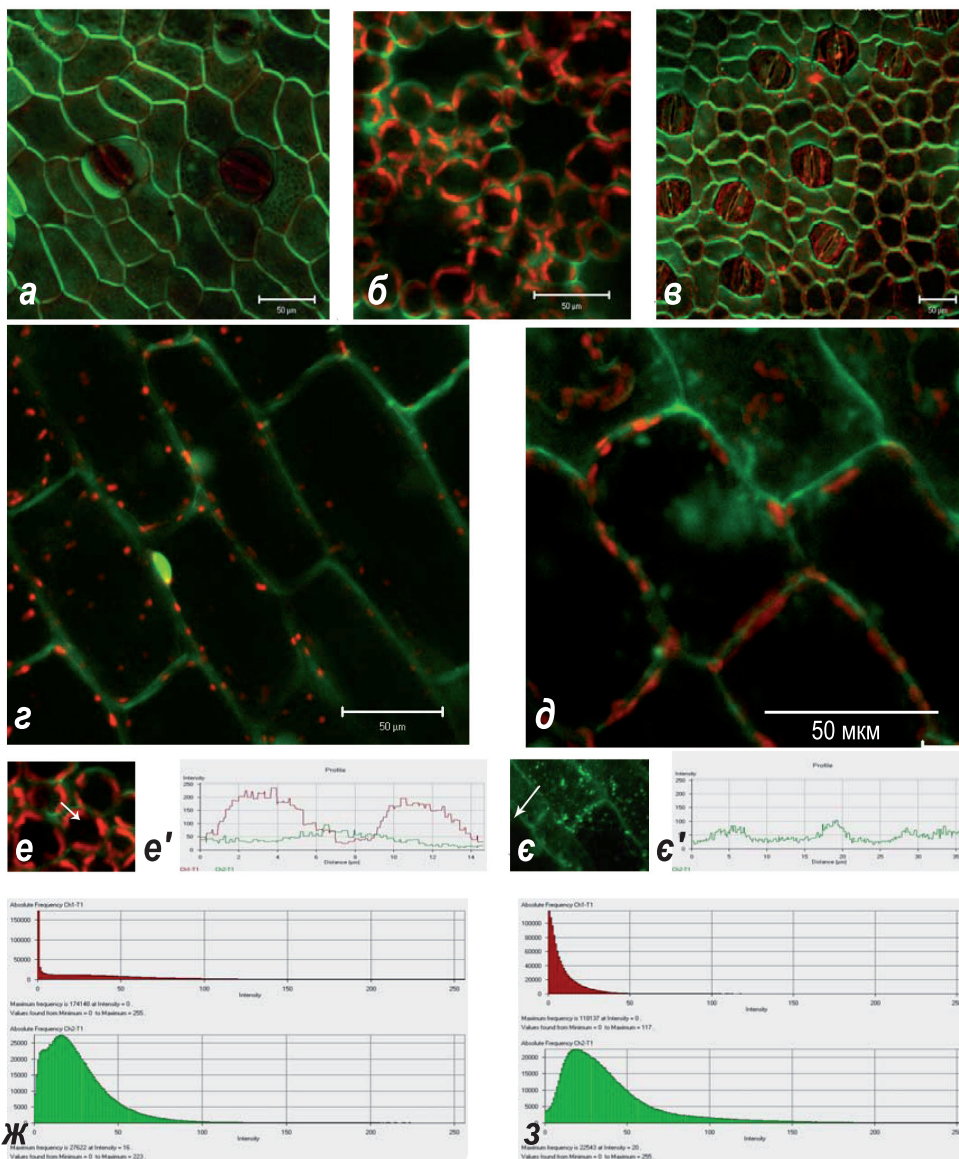


Рис. 2.5.2.2. Цитохімічна флуоресценція целюлози у клітинах надводних (а-в) та підводних листків (г-є) *Sagittaria sagittifolia*. Локалізація целюлози має зелену флуоресценцію. Тканини листка: а – адаксіальний епідерміс, б – губчаста паренхіма, в – адаксіальний епідерміс, г, д – фотосинтезуюча паренхіма підводного листка, е, е', є, є' – гістограми інтенсивності флуоресценції целюлози (зелена лінія) та інтенсивності автофлуоресценції хлорофілу (червона лінія). Ордината – інтенсивність флуоресценції, відносні одиниці (пікселі). Абсциса – віддаль (мкм), що була просканована на рисунку е та є. Ця віддаль показана білою стрілкою на рисунках е та є. На діаграмах ж та з – абсолютне значення інтенсивності флуоресценції целюлози в пікселях (зелена частина діаграми) та автофлуоресценції хлорофілу (червона частина діаграми). Масштаб = 50 мкм

Продовження табл. 2.5.2.3

| Вид / тканина / клітинна оболонка | Інтенсивність флуоресценції целюлози, відн. од | |
|--|--|-----------------|
| | Надводні листки | Підводні листки |
| Продихи | | |
| клітинна оболонка пори | 49 ± 3,8 | Відсутні |
| периклінальна оболонка замикаючих клітин | 36 ± 3,1 | - |
| антиклінальна оболонка замикаючих клітин | 147 ± 17 | - |
| Палісадна паренхіма | 106 ± 11 | Відсутня |
| Губчаста паренхіма (чи фотосинтезуючі клітини підводних листків) | 56 ± 3,5 | 69 ± 3,9* |

Примітка: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,001$.ТАБЛИЦЯ 2.5.2.4. Біохімічні характеристики листків *S. sagittifolia* у фазі вегетативного росту (Nedukha, Kordyum, 2013)

| Параметер | Надводний листок | Підводний листок |
|-----------------------------|------------------|------------------|
| Вміст води у листку, % | 88,7 ± 0,7 | 93,8 ± 0,9** |
| Вміст целюлози, мг/г СМ | 86 ± 5,9 | 71 ± 3,7* |
| Вміст геміцелюлоз, мг/г СМ | 357 ± 11 | 397 ± 12* |
| Вміст пектину, мг/г СМ | 210 ± 14 | 50,4 ± 4,7** |
| Вміст протопектину, мг/г СМ | 22,7 ± 3,1 | 86,3 ± 7,1** |
| Вміст лігніну, мг/г СМ | 25,6 ± 3,1 | 58,6 ± 4,9** |

(Скорочення: СМ - суха маса); Примітка: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,001$.

Отже, цитохімічним методом показано, що відносний вміст целюлози у клітинних оболонках епідермісу та фотосинтезуючих клітин підводних листків був меншим, ніж у відповідних тканинах надводних листків. Відомо, що мікрофібрили целюлози в своєму складі містять як аморфні, так і кристалічні ділянки, останні надають механічної міцності оболонці й можуть розглядатися як основна складова еластичності вторинних оболонок (Тапака et al., 2003). Базуючись на цьому, дослідники висувають наступні припущення: при затопленні зовнішні периклінальні оболонки епідермальних клітин досліджуваних рослин є більш гнучкими, тоді як клітинні оболонки фотосинтезуючої паренхіми здатні до більших механічних навантажень (Nedukha, Kordyum, 2013). Механізм таких змін поки залишається відкритим для подальших досліджень.

Біохімічний аналіз виявив відмінності у вмісті целюлози в підводних та надводних листків *S. sagittifolia*: вагоме зменшення – в листках, які зростали під водою. Дані літератури

щодо вмісту целюлози в затоплених рослинах різні. Rose-John та Kende (1984) не виявили відмінностей у вмісті целюлози в затоплених та надводних міжвузлях стебел рису, тоді як Little (2003) показав зниження в 1,5 раза вмісту целюлози у затоплених пагонах *Ludwigia repens* у порівнянні із надводними пагонами. Можливо, це залежить від виду, тканини та стадії розвитку рослини. Ми припускаємо, що зниження вмісту целюлози в підводних органах досліджуваних видів може бути наслідком інгібування генів *CesA*, що кодують ферменти синтезу целюлози, як у первинних (Taylor et al., 2000), так і вторинних клітинних оболонках (Tanaka et al., 2003). Крім того, відомо, що в затоплених листках та стеблах рослин знижується активність фотосинтезу (Mommer, Visser, 2005; Mommer et al., 2007), що призводить до зниження вмісту асимілятів, включаючи й вміст глюкози, яка служить будівельним матеріалом для синтезу молекул целюлози. Враховуючі вищезазначені дані літератури, можна припустити, що зниження загального вмісту целюлози та підвищення вмісту аморфної целюлози у затоплених листках повітряно-водних рослин веха широколистої та стрілолиста звичайного, очевидно, зумовлені як зниженням активності фотосинтетичних процесів, так і генетичними відмінностями затоплених на надводних листків.

2.5.3. Роль калози

У ранніх роботах по вивченню впливу природного затоплення на полісахариди листків *Alisma plantago-aquatica* із використанням люмінесцентної мікроскопії показано, що відносний вміст калози у клітинних оболонках листків, черешок яких був у воді, а пластинка піднімалася високо над водою, достовірно перевищував вміст калози у листках цього ж виду, що росли за кілька метрів від берега на суходолі (р. Псьол, Полтавська обл.) (табл. 2.5.3.1) (Недуха, Овруцька, 1998). Авторами виявлено, що в оболонках клітин епідермісу та мезофілу калоза люмінесціювала у вигляді окремих зерен, тоді як у оболонках трахеальних елементів – у вигляді суцільного шару.

ТАБЛИЦЯ 2.5.3.1. Вплив водного оточення на відносний вміст калози у клітинних оболонках низових листків частухи подорожникової (Недуха, Овруцька, 1998)

| Клітинні оболонки різних тканин | Інтенсивність флуоресценції калози в клітинних оболонках тканин листків частухи, що росла в різних умовах, відн. од. | |
|---------------------------------|--|---------------------|
| | у воді | на березі (суходіл) |
| Епідерміс | 0,105 ± 0,003 | 0,039 ± 0,004* |
| Мезофіл | 0,135 ± 0,005 | 0,016 ± 0,006* |
| Судини ксилеми | 0,272 ± 0,006 | 0,104 ± 0,003* |

Примітка : * - $p \leq 0.05$

Ретельне порівняльне дослідження впливу природного затоплення на розподіл та відносний вміст калози було проведено на надводних та підводних листках *Sagittaria sagittifolia*.

***Sagittaria sagittifolia*, фоза вегетативного росту. Надводні листки.** Цитохімічним методом показано, що калоза локалізується в клітинних оболонках епідерми, мезофілу та судин провідних пучків стрілоподібних надводних листків (рис. 2.5.3.1, а). Комплекс аніліновий синій+калоза в досліджуваних тканинах флуоресціював яскраво-зеленим кольором. За допомогою програми «PASCAL» на лазерному сканувальному конфокальному мікроскопі визначали відносний вміст калози в оболонках досліджуваних тканин (табл. 2.5.3.2). Встановлена наступна залежність інтенсивності флуоресценції калози від типу тканин: клітинні оболонки судин > антиклінальні оболонки нижньої і верхньої епідерми > палісадна паренхіма > губчаста паренхіма.

У надводних листках стрілолиста в антиклінальних оболонках верхньої та нижньої епідерм, а також замикаючих клітин продихів нижньої епідерми інтенсивність флуоресценції калози була достовірно вищою, ніж в периклінальних оболонках цих клітин (табл. 2.5.3.2). В оболонках клітин палісади вміст калози також був більшим, ніж у клітинах губчастого мезофілу.

Встановлено, що максимальна інтенсивність флуоресценції калози в мезофілі та провідних пучках становила 51804 пікселей (рис. 2.5.3.1, д; зелена, нижня частина діаграми), максимальна інтенсивність флуоресценції хлорофілів у клітинах мезофілу також була досить високою й становила 223347 пікселей (верхня, червона частина діаграми), хоча в частини клітин ця величина була ще вищою.

Підводні листки стрілолиста. Флуоресценція калози виявлена в клітинних оболонках епідермісу, фотосинтезуючої паренхіми та судин провідних пучків (рис. 2.5.3.1, б). Встановлено, що умови зростання листків у воді спричиняли достовірне підвищення вмісту калози в периклінальних та антиклінальних оболонках епідерми, в оболонках судин провідних пучків, фотосинтезуючої паренхіми у порівнянні із аналогічними клітинними оболонками надводних листків. Відмінності в інтенсивності флуоресценції комплексу аніліновий синій + калоза показані в таблиці 2.5.3.2 та на рисунку 2.5.3.1, г (графік). Залежність інтенсивності флуоресценції калози в клітинних оболонках підводних листків стрілолиста звичайного була такою: клітинні оболонки судин провідного пучка > периклінальні оболонки епідерми > 1-ий шар фотосинтезуючої паренхіми > антиклінальні оболонки епідермісу > 2-ий-4ий шари фотосинтезуючої паренхіми.

Необхідно відмітити, що максимальна інтенсивність флуоресценції калози в клітинних оболонках фотосинтезуючої паренхіми та провідних пучках та епідермісу була втричі вища, ніж у надводних листках, і становила 174287 пікселей (рис. 2.5.3.1, е; зелена частина діаграми). Максимальна інтенсивність автофлуоресценції хлорофілів у клітинах паренхіми та епідермісу становила 242056 пікселей (рис. 2.5.3.1, е; червона частина діаграми).

ТАБЛИЦЯ 2.5.3.2. Відносний вміст калози в різних листках *Sagittaria sagittifolia*

| Вид / тканина / клітинна оболонка | Інтенсивність флуоресценції калози в різних листках, відн. од. | |
|---|--|-----------------------------|
| | у надводних листках | у листках, занурених у воду |
| Адаксіальний епідерміс (чи епідерміс підводного листка) | | |
| – периклінальна оболонка | 5 ± 0,09 | 76 ± 5,3* |
| – антиклінальна оболонка | 102 ± 9,3 | 123 ± 7,7* |
| Продихи | | Відсутні |
| – оболонка пори | Сліди | |
| – периклінальна оболонка замикаючих клітин | Сліди | - |
| – антиклінальна оболонка замикаючих клітин | 10 ± 0,7 | - |
| Абаксіальний епідерміс | | |
| – периклінальна оболонка | 30 ± 3,7 | 60 ± 7,1 |
| – антиклінальна оболонка | 112 ± 11 | 135 ± 10 |
| Продихи | | Відсутні |
| – оболонка пори | 49 ± 3,8 | - |
| – периклінальна оболонка замикаючих клітин | 36 ± 3,1 | - |
| – антиклінальна оболонка замикаючих клітин | 107 ± 17 | - |
| Палісадний мезофіл (чи 1-ий шар фотосинтезуючої паренхіми підводного листка) | 106 ± 11 | 117 ± 10 |
| Губчастий мезофіл (чи 2-3-й шари фотосинтезуючої паренхіми підводного листка) | 23 ± 2,5 | 37 ± 2,9* |
| Судини провідного пучка | 177 ± 11 | 225 ± 12* |

Примітка : * - $p \leq 0.05$

Відомо, що синтез калози опосередкований активацією калозосинтетази, яка є кальцій залежною (Kauss, Jeblick, 1991). Ми припустили, що посилений синтез калози в підводних листках повітряно-водних рослин *Sium latifolium* та *Sagittaria sagittifolia* опосередкований активацією кальцієвого балансу. Для перевірки висунутого припущення ми дослідили розподіл та відносний вміст іонів кальцію у клітинних оболонках та цитоплазмі клітин надводних та підводних листків *S. sagittifolia*.

Іони кальцію. При дії таких різноманітних стимулів, як освітленість, осмотичний та оксидативний стрес та ін., відбувається збільшення вмісту цитоплазматичного кальцію (Bush, 1995; Knight, 2000; Knight et al., 1997). Зміни кальцієвого балансу, які забезпечують пристосування рослини до навколишнього середовища, очевидно, стосуються й клітинних оболонок епідермісу та мезофілу листків, занурених у воду.

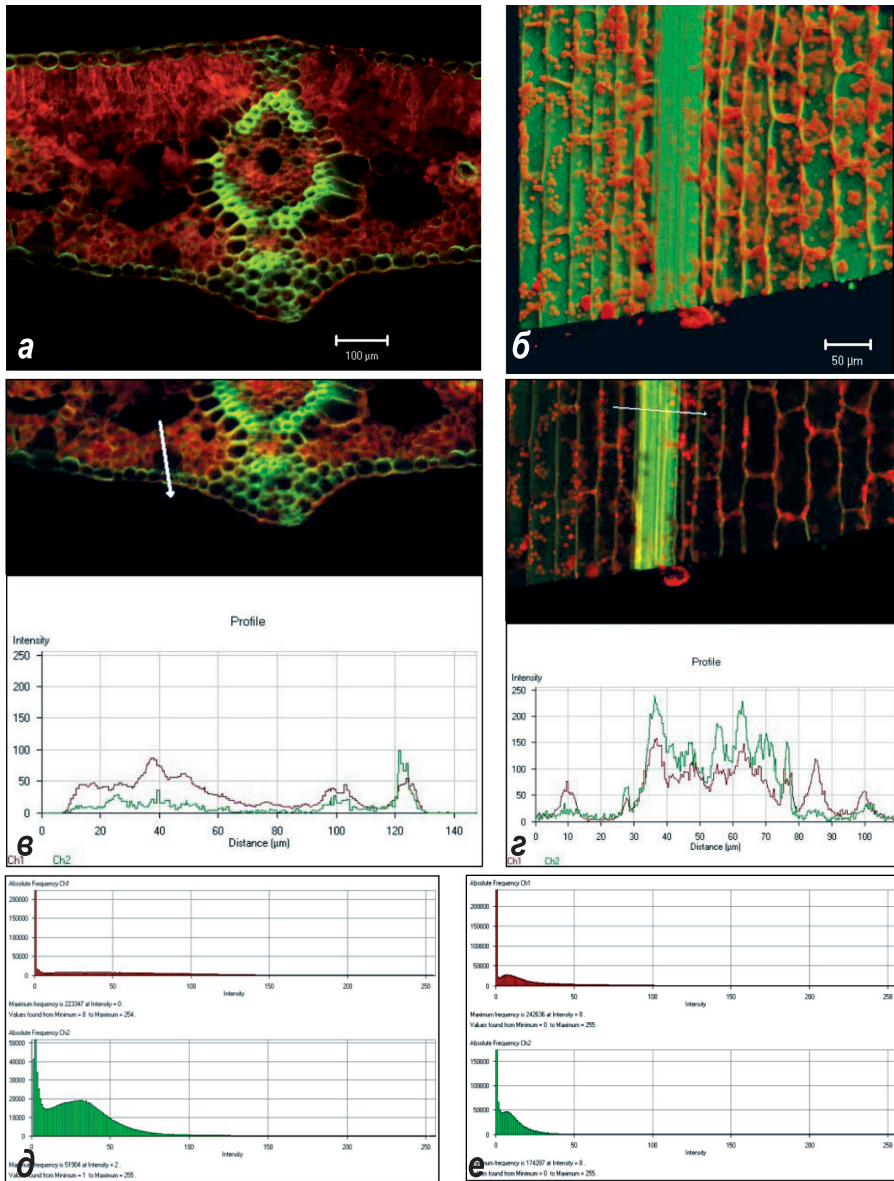


Рис. 2.5.3.1. Зрізи надводних (а, е) та підводних листків (б, з) *Sagittaria sagittifolia* після інкубації в розчині анілінового синього; комплекс калоза + аніліновий синій флуоресцює зеленим кольором, автофлуоресценція хлорофілу - червоним. На рис. в та з – гістограми інтенсивності флуоресценції калози (зелена лінія) та автофлуоресценції хлорофілу (червона лінія) у надводних (в) та підводних (з) листках. Ордината – інтенсивність флуоресценції, (відносні одиниці). Абсциса - віддаль (мкм), що була просканована на зрізі клітини. На діаграмах д та е – абсолютне значення інтенсивності флуоресценції калози в клітинах епідерми й провідного пучка (зелена частина діаграми) та автофлуоресценції хлорофілу (червона частина діаграми), (у пікселях). Масштаб = 50 мкм

Відомо, що контроль за ростом та розвитком рослин, а також відповіддю рослинних організмів на дію факторів оточуючого середовища здійснюють вторинні посередники, включаючи циклічний ГМФ, ліпіди, Ca^{2+} та ін. Проте лише іони кальцію миттєво відповідають майже на всі стимули. Ca^{2+} бере участь у регуляції численних процесів в усіх рослинних тканинах, в яких Ca^{2+} -залежні ферменти активуються, чи інгібуються в залежності від вмісту цих іонів у цитоплазмі (Sanders et al., 1999; Bush, 1995). Це відбувається завдяки здатності іонів кальцію координувати численні (від 2 до 8) зв'язки з доменами білків та змінювати їхню конформацію (Белявская, 1994; 2003).

У клітинних оболонках іони кальцію, зв'язуючись із залишками галактуранової кислоти пектинів, приводять до конформаційних змін молекул пектинів, утворюючи димерні чи мультимерні форми пектину (Jarvis, 1982). Крім цього, іони кальцію в клітинних оболонках можуть зв'язуватись з полімерами ксиланів, індукуючи кристалізацію останніх та їхнє зв'язування з молекулами лігніну, що призводить до зміцнення оболонки.

Флуоресцентний аналіз локалізації іонів кальцію в присутності специфічного флуоресцентного індикатора Fluo-4 показав рівномірну зеленого кольору люмінесценцію іонів кальцію в клітинних оболонках, хлоропластах, ядрах та цитоплазмі клітин епідерми та мезофілу надводних і підводних листків стрілолиста звичайного (рис. 2.5.3.2). Дослідження розподілу відносного вмісту іонів кальцію за допомогою програми «Pascal» на дазерному конфокальному мікроскопі показало, що умови затоплення викликають збільшення вмісту іонізованого кальцію в клітинних оболонках епідермісу, особливо в антиклінальних оболонках іоболонках клітин мезофілу (рис. 2.5.3.3). Необхідно відмітити наявність інтенсивної флуоресценції іонів вільного кальцію і в міжклітинниках епідермісу підводних листків (рис. 2.5.3.2, з), відносний вміст іонів кальція у міжклітинниках коливався від 200 до 220 одиниць.

Враховуючи, що іони кальцію є активаторами калозосинтетази, можна зробити висновок, що посилений синтез калози в затоплених листках стрілолиста звичайного обумовлений активацією калозосинтетази. Очевидно, що сигнальна функція іонів кальцію при затопленні полягає в індукції підвищення синтезу калози в епідермісі листків, що призводить до оптимізації водного (і газового) транспорту, а також до підвищення стійкості затоплених листків до дії патогенів у водному середовищі.

Таким чином, встановлено, що природний ріст листків у воді, за умов якого підводні листки нормально ростуть і функціонують, викликає достовірне підвищення відносного вмісту калози в оболонках клітинах епідерми та судин провідних пучків *S. sagittifolia* та *Sium latifolium*. Одержані дані щодо підвищення вмісту калози в епідермісі підводних листків добре узгоджуються з даними по посиленню синтезу калози в ситовидних трубках флоєми під час диференціації та дії стресів, зокрема, при зміні оптимальної температури, коли клітинні оболонки гальмують, чи тимчасово припиняють апопластний водний транспорт (McNairn, 1972; Chen, Kim, 2009; Xie, Hong, 2011). Це відбувається завдяки здатності цього полісахариду перешкоджати транспорту водних розчинів по апопласту, змінювати еластичність та швидкість розтягу клітинних оболонок, а також завдяки швидкій взаємодії калозосинтетази з вільними іонами кальцію, що змінюють конформацію білка та сприяють його активації (Kauss, Jeblick, 1991).

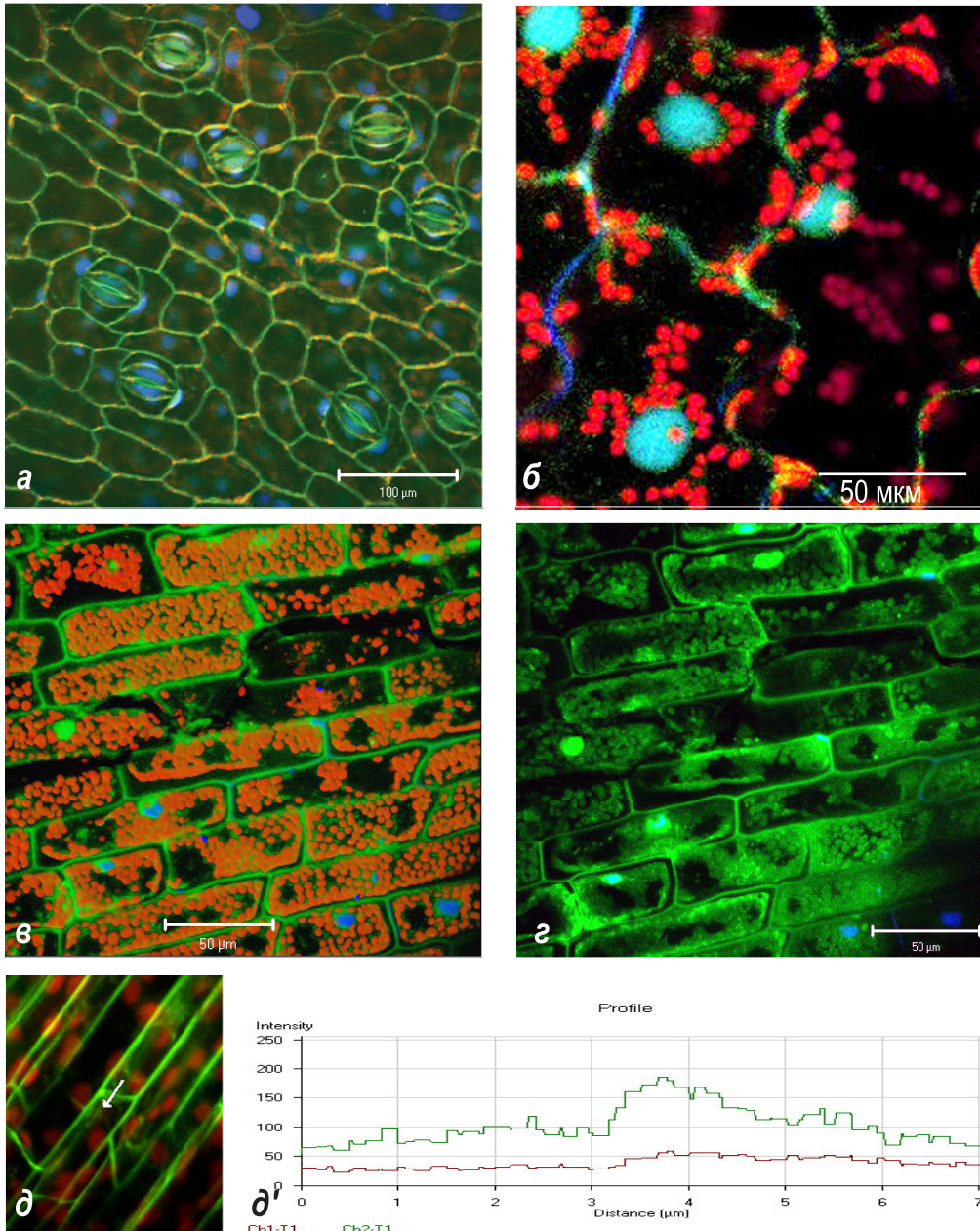


Рис. 2.5.3.2. Флуоресценція комплексу $\text{Ca}^{2+} + \text{Fluo-4}$ (зеленим кольором) у клітинах епідермісу (а) та мезофілу (б) надводних листків і в клітинах фотосинтезуючої паренхіми підводних листків (в, г) стрілолиста звичайного. ДНК ядер (після фарбування DAPI) флуоресцює блакитним кольором (рис. а-в). На рис. д' – гістограма інтенсивності флуоресценції іонів кальцію (зелена лінія) та автофлуоресценції хлорофілу (червона лінія) у підводних листках. Ордината – інтенсивність флуоресценції (відн. од.). Абсциса - віддаль (мкм), що була просканована на зрізі (рис. д). Масштаб: а – 100 мкм (рис. а) та 50 мкм (рис. б-г)

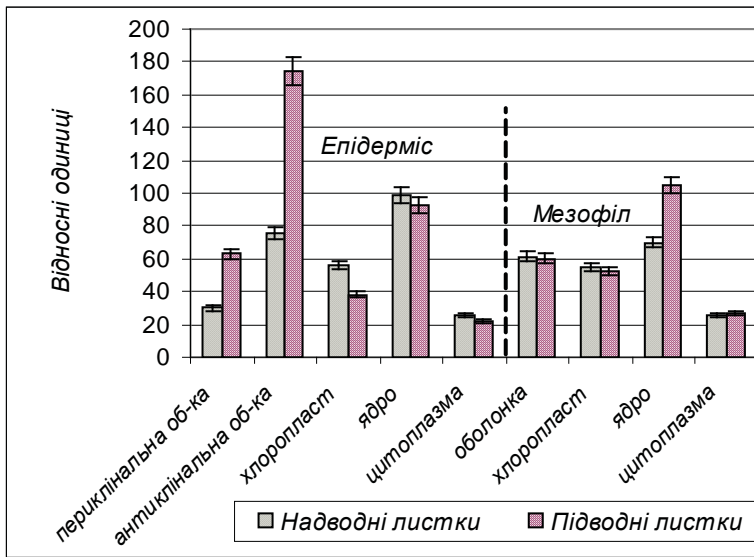


Рис. 2.5.3.3. Відносний вміст іонів кальцію у клітинних оболонках, хлоропластах і ядрах клітин епідермісу та мезофілу надводних і підводних листків стрілолиста звичайного

Іншим механізмом, що впливає на посилений синтез калози в затоплених листках рослин, може бути пряма чи опосередкована дія фітогормонів етилену та АБК, вміст яких у затоплених органах рослин значно збільшується в порівнянні з повітряними (надводними) чи суходільними органами тих же рослин (Недуха, 2011). Як відомо, АБК стимулює загальне включення сахарози в калозу (Pillonei, Meier, 1985), а етилен прискорює підводний ріст органів (Voesenic et al., 2004; 2006).

Ми вважаємо, що наявність великої кількості калози в епідермісі підводних листків є адаптаційною структурно-функціональною ознакою збереження оптимального тургору підводних клітин та регуляції чи інгібування апопластного водного транспорту по епідермісу, що захищає підводні листки від проникнення води з оточуючого водного середовища в середину клітини, так і з клітин у водне середовище. Крім цього, відомо, що калоза епідермальних клітин захищає поверхню органів від проникнення іонів важких металів та дії патогенів, що було встановлено на клітинах коренів суходільних рослин (Krzesłowska, 2011; Hofmann et al., 2010), а також збільшує еластичність та гнучкість листків і стебел (Parre, Geitmann, 2005). Враховуючи вищезазначені дані літератури та результати наших експериментів можна припустити, що підвищений вміст калози у епідермісі підводних листків повітряно-водних рослин збільшує їх еластичність у воді та сприяє оптимальній життєздатності підводних органів під дією сильних течій та тиску води. Питання про клітинні та молекулярні механізми посиленого синтезу калози в епідермісі та судинах провідних пучків підводних листків залишається відкритим.

2.5.4. Роль лігніну

Лігнін – полімер ароматичних спиртів, який синтезується в клітинних оболонках, що закінчили ріст розтягом, і бере участь в адаптації рослини до затоплення, змінюючи структурованість матрикса клітинних оболонок, забезпечуючи непрхідність води та водних розчинів через клітинні оболонки судин провідних пучків, а також формуючи в епідермісі бар'єр для патогенів. Лігнін є комплексом монолігнінів, які утворюються із *p*-гідроксифенілових, гваяцилових та сиригілових складових (Adler, 1977), що включаються в полімеризацію лігніну й різняться ступенем метоксилування (Leisola et al., 2012).

Затоплення та замулення впливають на лігніфікацію клітинних оболонок рослин. Досліджуючи механізми адаптації кореневої системи рису (Nishiuchi et al., 2012) до затоплення та замулення, основним ефектором, яких є нестача кисню, автори встановили, що корені утворюють аеренхіму та радіальний бар'єр утрати кисню. Показано, що аеренхіма розвивається в коренях, міжвузлях, обкладенках та серединній жилці листків. Аеренхіма служить для постачання O_2 зі стебла до коренів і для вентиляції газу (CO_2 та етилену) із коренів до стебла, CO_2 транспортується від кореня (при диханні) до повітряних лакун стебла. І саме при затопленні в таких коренях спостерігали відклади лігніну, який протидіє проникненню іонів Fe^{2+} та Cu^{2+} , а також $NaCl$ (Ranathunge et al., 2011). Вважають, що саме лігнін та суберин можуть ефективно закупорювати пори в оболонці, і цим самим утворюють бар'єр для проникнення кисню та іонів.

Ефект впливу затоплення (на глибині 50 см) на лігніфікацію стебел рису вивлено при порівнянні трьох сортів рису: 1) стійкого до затоплення (FR 13A), який має в дев'ятій хромосомі гени *SUB1A* і *SUB1B*, що кодують транскрипційні фактори, які відповідають за синтез етилену; 2) сорту IR 42, який чутливий до затоплення та 3) сорту Sabita, адаптованого до стійкого затоплення (Panda, Sarkar, 2013). При затопленні чутливий сорт IR 42 значно прискорював швидкість росту стебла та швидкість розтягу листків у порівнянні зі стійким сортом. Встановлено, що вміст лігніну у стеблах рису та активність двох ферментів процесу лігніфікації (коніферолалкогольдегідрогенази та фенілаланінамонійліази) були знижені після затоплення у чутливого до затоплення сорту та в контролі. Виявлено негативний зв'язок між видовженням стебла, вмістом лігніну й активностями досліджуваних ферментів. Також показано негативний зв'язок між висотою рослини та вмістом структурних полісахаридів (целюлозою й геміцелюлозами) (табл. 2.5.4.1).

За даними дослідників (Turee, Cheung 1977; Niklas 1992) підводні органи рослин зазнають напруження внаслідок дії ваги водяного стовпа та механічної дії хвиль. Питання щодо дії напруги на структуру та функціонування клітинних оболонок затоплених рослин лишається відкритим. Є дані щодо дії напруги на клітинні оболонки суходільних рослин. Так, у голонасінних реакція напруги деревини відбувається на рівні кількох елементів судин, що мають невеликий діаметер, товсті оболонки фібрил, високий вміст целюлози та низький вміст лігніну (Wilson, White, 1986). Такі оболонки характеризуються невеликою

кількістю гваяколу, значним вмістом сиригїлу та тришаровою структурою (Joseleau et al., 2004), що було показано імуноцитохімічним методом на клітинах *Populus deltoides* та *Liriodendron tulipifera* (Yoshida et al., 2002). У більшості таких робіт не пояснюються зміни в складі монолігнінів. За даними інших дослідників (Paux et al., 2005) зниження синтезу лігніну гваяколового типу в умовах наявності напруги деревини при формуванні фібрил, очевидно, можна пояснити диференціальною експресією генів *CCoAOMT* та *COMT*, які відповідають за ферменти метилювання.

ТАБЛИЦЯ 2.5.4.1. Вплив затоплення на вміст лігніну та полісахаридів у стеблах рису (Panda, Sarkar, 2013)

| Сорт рису | Геміцелюлози, мг г. ⁻¹ сухої маси | Целюлози, мг г. ⁻¹ сухої маси | Лігнін, мг г. ⁻¹ сухої маси | Висота стебла, см |
|-----------|---|---|---|---|
| | Перед затопленням / після затоплення | Перед затопленням / після затоплення | Перед затопленням / після затоплення | Перед затопленням / після затоплення |
| FR 13 | 230 ± 6.5 / 225 ± 3.5 | 138 ± 5.3 / 108 ± 3.4 | 1,84±0,09/1,52±0,08 | 31,5 ± 1,2 / 42,3 ± 1,1 |
| IR 42 | 226 ± 8.2 / 195 ± 5.3 | 132 ± 6.2 / 80 ± 4.2 | 2,75±0,12/1,90±0,13 | 26,9 ± 2,3 / 52,5 ± 2,1 |
| Sabita | 236 ± 7.3 / 227 ± 7.3 | 127 ± 8.3 / 93 ± 4.3 | 2,35±0,11/1,95±0,11 | 30,2 м1,5 / 58,3 ± 1,3 |

Примітка: FR 13 – сорт рису, стійкий до затоплення; IR 42 – сорт рису, чутливий до затоплення; Sabita – сорт рису, адаптований до затоплення

При стисканні деревини наявні невеликі та округлі трахеїди з товстими клітинними оболонками, що містять багато лігніну, менше целюлози, та характеризується меншим кутом формування сітки целюлози та відсутністю шару S3 (Donaldson, 2001; 2002; Yeh et al., 2005). У складі лігніну такої деревини переважають гідроксипропанолові одиниці (Monties, 1989), а у ксилемі *Picea sitchensis* характеризуються підвищеною активністю лакази та поліфенолпероксидази (McDougall, 2000), тоді як ксилема *Pinus pinaster* – підвищеною активністю ферментів COMT та CCoAOMT (Plomion et al., 2000). Крім того, виявлена експресія генів, пов'язаних з активацією ферментів синтезу лігніну, а саме: PAL, C4H, OMT, 4CL, CAD, дифенолоксидази (лакази) та пероксидази (Allona et al., 1998), а також показана експресія транскрипційних факторів R2R3-MYB, пов'язаних із синтезом лігніну (Bedon et al., 2007).

Відомо, що сиригїловий (S) монолігнін в основному входить до складу лігніну квіткових рослин та трав'янистих спорових рослин, тоді як гідроксифеніловий (H) та гваяциловий (G) монолігніни входять до складу лігніну багатьох судинних рослин (Weng et al., 2010). Питання щодо розподілу лігніну в різних тканинах затоплених органів, ролі

монолігнінів та їхнього співвідношення в клітинних оболонках у процесі природної адаптації рослин до затоплення до останнього часу лишалося відкритим. Тому ми почали проводити порівняльне дослідження розподілу лігніну та його монолігнінів у клітинних оболонках затоплених та надводних листків. Для цього були використані листки, що закінчили ріст розтягом, у наступних рослин: *Sagittaria sagittifolia*, *Potamogeton perfoliatus* та *Myriophyllum spicatum*. Дослідження розподілу та відносного вмісту лігніну в оболонках різних тканин листків проводили цитохімічним методом (Nedukha, Kordyum, 2013). Використання специфічного флуорохрому – ауреміну (auramine-O), який зв'язується з лігніном і люмінесцює жовтим кольором в ультрафіолеті, дозволило дослідити його розподіл у залежності від тканини листка по флуоресценції в лазерному скануючому конфокальному мікроскопі.

***Sagittaria sagittifolia*, фаза вегетативного росту.**

Надводні (стріловидні) листки. Цитохімічний аналіз лігніну в стріловидних листках *S. sagittifolia* показав світло жовту флуоресценцію лігніну в клітинних оболонках епідермісу та мезофілу (рис. 2.5.4.1, а, б). Рівні інтенсивності флуоресценції лігніну представлені в табл. 2.5.4.2. та на рис. 2.5.4.1, д та д'. Аналіз інтенсивності флуоресценції показав, що відносний вміст лігніну в оболонках верхньої епідерми був вищим, ніж в оболонках нижньої епідерми. Відносний вміст лігніну в клітинних оболонках мезофілу був у два-чотири рази менший, ніж в оболонках верхньої епідерми листків. Виявлено, що максимальна інтенсивність флуоресценції лігніну в нижній епідермі та мезофілі становила 100000 пікселей (рис. 2.5.4.1, е; жовта діаграма), тоді як автофлуоресценції хлорофілу – 800000 пікселей, відповідно (рис. 2.5.4.1, е; червона діаграма).

Біохімічний аналіз показав, що загальний вміст лігніну у надводних стріловидних листках *S. sagittifolia* становив $26,5 \pm 3,1$ мг/г сухої маси.

Підводні листки. Цитохімічний аналіз комплексу ауремін-O + лігнін у підводних листках стрілолиста звичайного показав жовту флуоресценцію лігніну в клітинних оболонках епідерми та фотосинтезуючої паренхіми (рис. 2.5.4.1, в, з). Вімінності в інтенсивності флуоресценції лігніну в різних тканинах представлені в таблиці 2.5.4.2. та рис. 2.5.4.1, е' (гістограма). Виявлено, що максимальна інтенсивності флуоресценції лігніну в епідермісі підводних листків була втричі вищою (300000 пікселей), ніж така в надводних листків (рис. 2.5.4.1, ж; жовта діаграма), і відповідно автофлуоресценції хлорофілу була меншою, ніж у надводних листках стрілолиста (рис. 2.5.4.1, ж; червона діаграма).

Біохімічний аналіз показав, що загальний вміст лігніну у затоплених листках *S. sagittifolia* був вищим в 2,28 раза, ніж надводних листках, і становив $60,4 \pm 4,7$ мг/г сухої маси.

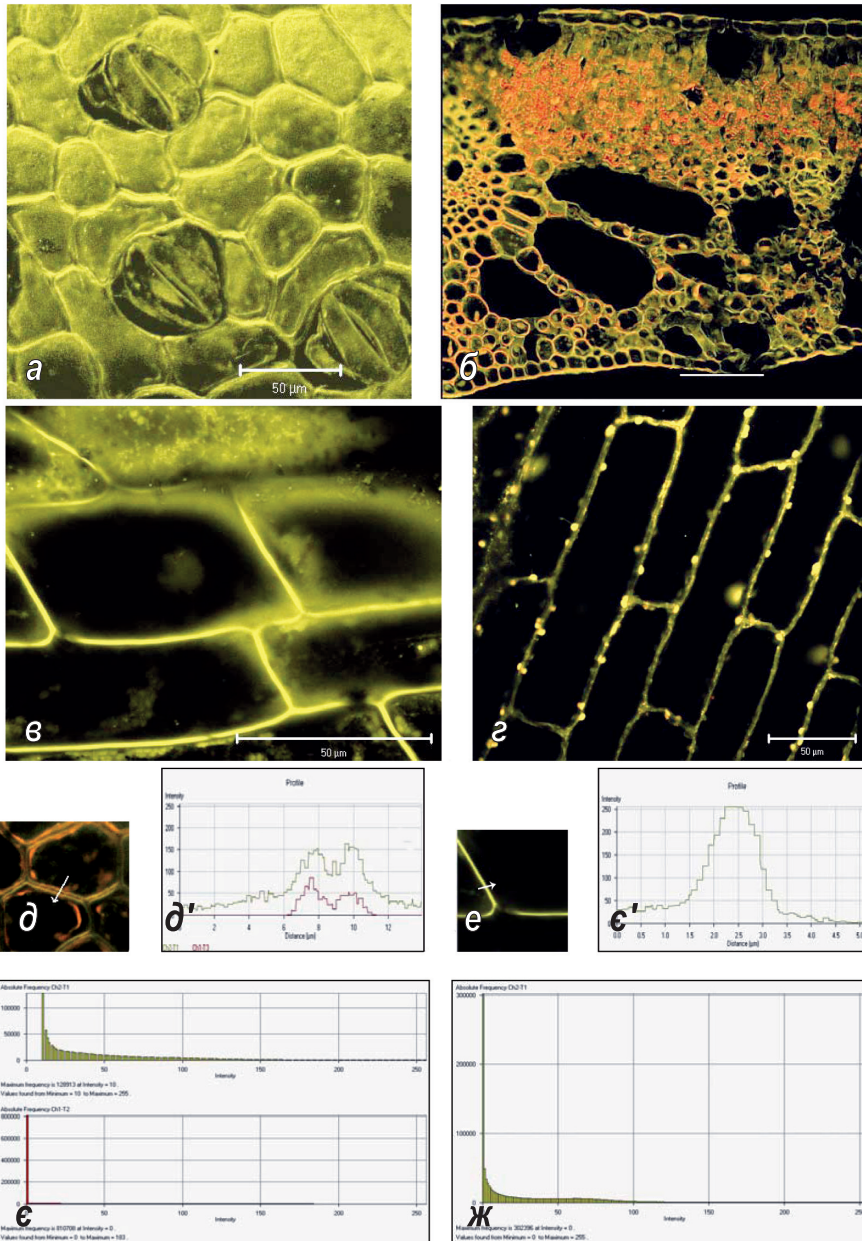


Рис. 2.5.4.1. Мікрофотографії цитохімічної флуоресценції лігніну у клітинах надводних (рис. а, б) та підводних листків (е, з) *Sagittaria sagittifolia*. Локалізація лігніну має жовту флуоресценцію. Типи тканин: а – верхня епідерма, б – поперечний зріз листка, е – епідерміс; з – фотосинтезуюча паренхіма; д' та е' – гістограми інтенсивності флуоресценції лігніну (жовта лінія) та автофлуоресценції хлорофілу (червона лінія). Ордината – інтенсивність флуоресценції, відн. од. Абсциса – віддаль (мкм), яка була просканована на риунках д, е. Ця віддаль показана білою лінією. На діаграмах е та ж – абсолютне значення інтенсивності флуоресценції (в пікселях) лігніну (жовтий графік) та автофлуоресценції хлорофілу (червоний графік). Масштаб = 50 мкм

ТАБЛИЦЯ 2.5.4.2. Відносний вміст лігніну у надводних та підводних листках *S. sagittifolia*

| Вид / тканина / клітинна оболонка | Інтенсивність флуоресценції лігніну в різних листках, відн. од. | |
|--|---|-----------------|
| | Надводні листки | Підводні листки |
| Адаксіальний епідерміс (або ж епідерміс підводних листків) | | |
| периклінальна оболонка | 90 ± 5,9 | 242 ± 11** |
| антиклінальна оболонка | 160 ± 11 | 191 ± 9,1* |
| Продихи | | |
| оболонка пори | 171 ± 14 | Відсутні |
| периклінальна оболонка замикаючих клітин | 83 ± 7 | |
| атиклінальна оболонка замикаючих клітин | 136 ± 12 | |
| Абаксіальний епідерміс | | |
| периклінальна оболонка | 27 ± 3,9 | |
| антиклінальна оболонка | 70 ± 5,7 | |
| Продихи | | Відсутні |
| оболонка пори | 207 ± 21 | |
| периклінальна оболонка замикаючих клітин | 53 ± 5,3 | |
| атиклінальна оболонка замикаючих клітин | 65 ± 5,2 | |
| Палісадна паренхіма | 55 ± 3,7 | Відсутня |
| Губчаста паренхіма (чи фотосинтезуючі клітини підводних листків) | 34 ± 2,1 | 50 ± 3,7** |

Примітка: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,001$

Таким чином, показано наявність лігніну в клітинних оболонках, його розподіл по тканинах підводних та надводних листків повітряно-водної рослини *S. sagittifolia*. Виявлено збільшення вмісту лігніну у підводних листках, що аналогічно даним по збільшенню лігніну у затоплених стеблах *Ludvigia repens* (Little, 2003). Літле С. показав, що при затопленні стебел *L. repens* вміст лігніну стає в 1,6 раза вищим, ніж у стеблах, що вийшли з води. Чому це відбувається? Відомо, що лігнін є високорозгалуженим полімером фенілпропаноїдних складових, які синтезуються в складному циклі (Rastogi, Dwivedi, 2008), проходження якого залежить від численних ендогенних (фітогормонів) та екзогенних факторів, включаючи освітлення, температуру, концентрацію оточуючих газів та біотичні стреси (Moura et al., 2010). Вважають, що функціональне значення лігніну – це механічна підтримка тканин, яка дозволяє рослині втримуватися у вертикальному положенні по відношенню до Землі і не падати (Niklas, 1992). У той же час, підводні органи затоплених рослин (стебла та листки) повинні витримувати тиск води (її вагу) та дію хвиль (Tyree, Cheung, 1977; Niklas, 1992), що впливає на ріст та структурно-функціональні параметри тканин і клітин, як це описано для

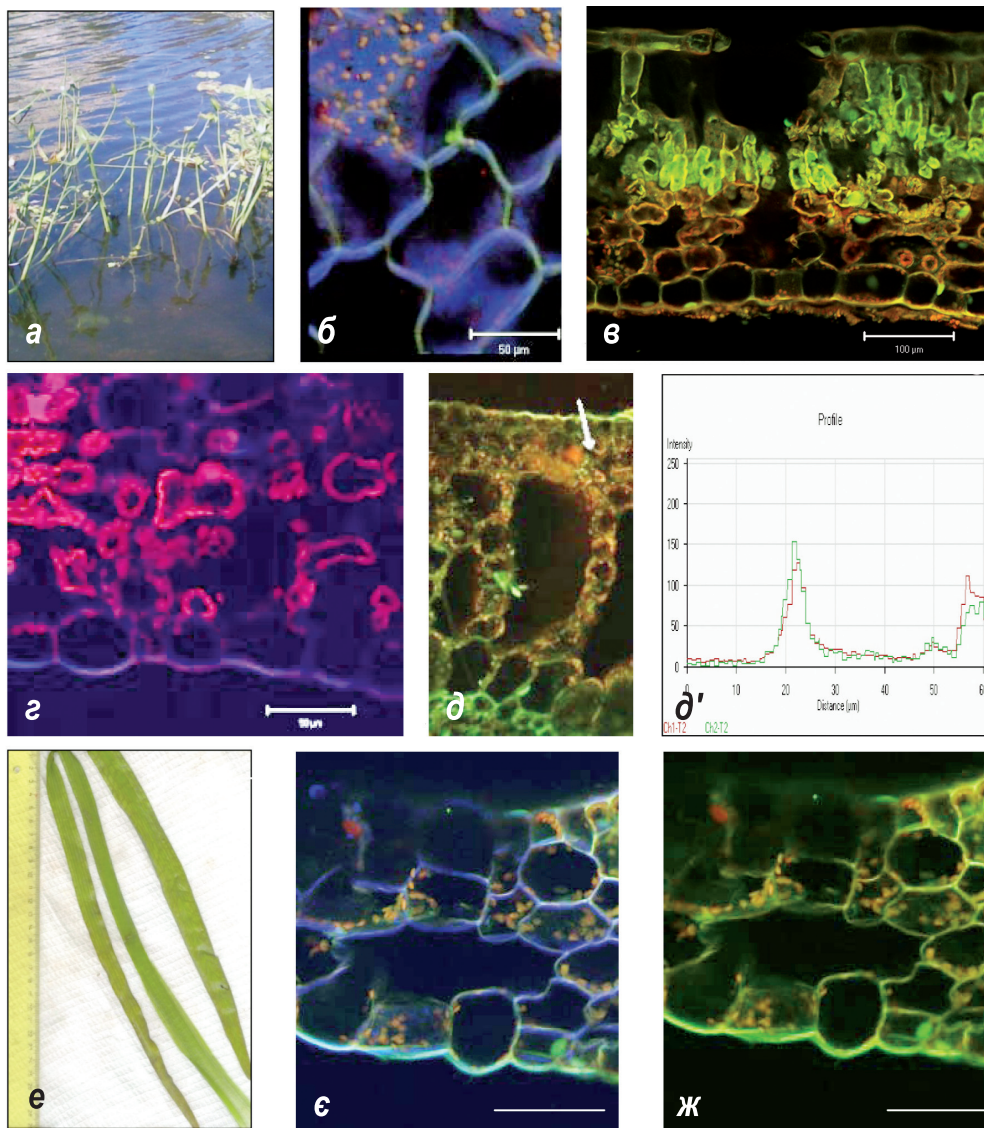


Рис. 2.5.4.2. Загальний вигляд надводних (а) та підводних (е) листків *Sagittaria sagittifolia*. Цитохімічна флуоресценція складових лігніну в листках. Комплекс ДФКК + сирингіл у клітинних оболонках флуоресцює блакитним кольором; комплекс ДФКК + гваяцил флуоресцює зеленим кольором; автофлуоресценція хлорофілу має червоний колір: б, в, г – сирингіл+гваяцил; в, д, ж – гваяцил; з – сирингіл. На рис. д' – гістограма інтенсивності флуоресценції гваяцилу (зелена лінія) та автофлуоресценції хлорофілу (червона лінія). Ордината – інтенсивність флуоресценції, відн. од. Абсциса – віддаль (мкм), яка була просканована на рис. д; ця віддаль показана білою лінією. Рис. б-д – надводний листок; в, ж – підводний листок. Масштаб = 100 мкм (в, в, ж) та 50 мкм (б, з).

затоплених листків *Veronica anagallis-aquatica* (Boeger, Paulson 2003). З іншого боку, відомо, що підводні листки позбавлені трихом, продихів та товстої кутикули (Недуха, 2011), тому поверхня занурених у воду органів рослини стає більш чутливою до інвазії патогенів. Показано, що саме листки та стебла синтезують лігнін у відповідь на атаку патогенів (бактерій та грибів) (Hano et al., 2006; Moura et al., 2010). Можливо, що вищезазначені екзогенні чинники та деякі ендогенні фактори викликають посилений синтез лігніну в підводних листках досліджуваного виду стрілолиста звичайного.

Дослідження розподілу та вмісту монолігнінів у листках *Sagittaria sagittifolia*, *Myriophyllum spicatum* та *Potamogeton perfoliatus*

Для виявлення складових лігніну (монолігнінів сиригїлу та гваяцилу) застосовували цитохімічний метод фарбування тканин розчином 2-аміноетилефіру дифенілкарбонОВОЇ кислоти (ДФКК) згідно стандартного протоколу (Wuys et al., 2006); дослідження проводили на лазерному скануючому конфокальному мікроскопі. Виявлення сиригїлу проводили при довжині хвилі збудження 340-380 нм та гасіння – 430 нм, виявлення гваяцилу – при 450-490 нм та 520 нм, відповідно. Комплекс ДФКК+сиригїл флуоресцював блакитним кольором, комплекс ДФКК+гваяцил – зеленим кольором, відповідно. Визначення відносного вмісту сиригїлу та гваяцилу в клітинних оболонках листків проводили за допомогою програми «PASCAL». Для аналізу брали перші надводні (у стрілолиста звичайного) та другі-треті підводні листки, що закінчили ріст розтягом.

***Sagittaria sagittifolia*. Надводні стріловидні листки.** Цитохімічний аналіз локалізації сиригїлу та гваяцилу в тканинах надводних листків стрілолиста звичайного (рис. 2.5.4.2, а) показав, що сиригїл та гваяцил виявлялись в клітинних оболонках верхньої та нижньої епідерми, палісадної та губчастої паренхіми, а також в оболонках судин провідних пучків (рис. 2.5.4.2, б-д). Комплекс ДФКК + сиригїл флуоресцював блакитним кольором, ДФКК + гваяцил – зеленим кольором. Відносний вміст сиригїлу та гваяцилу відрізнявся в оболонках досліджуваних тканин (табл. 2.5.4.3): найвищі значення гваяцилу були в оболонках обох епідерм, палісадної паренхіми та судин. По величині відношення вмісту сиригїлу до вмісту гваяцилу (S/G) клітини різнилися, найбільші значення S/G виявлені в оболонках палісадної паренхіми. Необхідно відмітити, що периклінальні оболонки незалежно від типу епідермісу мали більші значення S/G у порівнянні з антиклінальними оболонками. Максимальна інтенсивність флуоресценції сиригїлу в епідермі та провідних пучках становила 280000 пікселей, максимальна інтенсивності флуоресценції гваяцилу – 370000 пікселей, автофлуоресценції хлорофілів у клітинах мезофілу – 430000 пікселей, відповідно.

Підводні листки (рис. 2.5.4.2, е). Цитохімічне дослідження складових лігніну в клітинних оболонках підводних листків *S. sagittifolia* показало, що клітини епідермісу, всіх шарів фотосинтезуючої паренхіми та судин провідних пучків містили сиригін та гваяцил, які флуоресціювали блакитним та зеленим кольором, відповідно (рис. 2.5.4.2, є та ж). По величині відношення вмісту сиригін/гваяцил клітини розміщуються в наступному порядку: судини > периклінальна оболонка епідермісу > антиклінальна оболонка епідермісу > фотосинтезуюча паренхіма (табл. 2.5.4.3).

ТАБЛИЦЯ 2.5.4.3. Вміст сиригінгу та гваяцилу в надводних та підводних листках *Sagittaria sagittifolia*, фаза вегетативного росту

| Листок/тканина/оболонка | Інтенсивність флуоресценції складової лігніну, відн.од. | | Відношення вмісту сиригін/гваяцил |
|-------------------------|---|---------------------------|-----------------------------------|
| | сиригінгу (тверда складова) | гваяцилу (м'яка складова) | |
| НАДВОДНИЙ ЛИСТОК | | | |
| Епідерміс адаксіальний: | | | |
| периклінальна оболонка | 53 ± 7 | 97 ± 7,9 | 0,54 |
| антиклінальна оболонка | 22 ± 3,9 | 113 ± 11 | 0,19 |
| Палісада | 147 ± 11 | 125 ± 15 | 1,18 |
| Губчастий мезофіл | 30 ± 3,7 | 75 ± 6,9 | 0,4 |
| Епідерміс абаксіальний: | | | |
| периклінальна оболонка | 29 ± 3,5 | 120 ± 13 | 0,24 |
| антиклінальна оболонка | 23 ± 0,9 | 62 ± 5,7 | 0,37 |
| Судини | 55 ± 7 | 237 ± 21 | 0,23 |
| ПІДВОДНИЙ ЛИСТОК | | | |
| Епідерміс адаксіальний: | | | |
| периклінальна оболонка | 42 ± 4,1 | 41 ± 3,7 | 1,02 |
| антиклінальна оболонка | 120 ± 17 | 200 ± 19 | 0,6 |
| Епідерміс абаксіальний: | | | |
| периклінальна оболонка | 70 ± 8 | 60 ± 7,1 | 1,17 |
| антиклінальна оболонка | 30 ± 5 | 45 ± 5,1 | 0,67 |
| Паренхіма, 1-ий шар | 71 ± 5,9 | 145 ± 14 | 0,49 |
| 2-4 шари паренхіми | 68 ± 4,9 | 125 ± 5,1 | 0,54 |
| Судини | 84 ± 8,1 | 68 ± 7,2 | 1,23 |

Myriophyllum spicatum. Аналіз складових лігніну клітинних оболонок розсічених листків *M. spicatum* у фазі вегетативного росту показав, що клітини епідермісу, фотосинтезуючої паренхіми та судин містили сиригінг та гваяцил, флуоресценція яких в комплексі із ДФКК була блакитного та зеленого кольору, відповідно (рис. 2.5.4.3). Виявлені досить високі значення як вмісту гваяцилу, так і сиригінгу в клітинних оболонках судин та антиклінальних оболонках епідермісу. У клітинних оболонках паренхіми ці значення були нижчі (табл. 2.5.4.4). Слід відзначити, що в кутках паренхімних клітин (рис. 2.5.4.3, з'; указано стрілкою) флуоресценція монолігнінів була значно вища, ніж уздовж оболонок. Крім цього, відношення вмісту сиригінгу до гваяцилу в оболонках фотосинтезуючої паренхіми було досить високе, особливо в першому шарі паренхіми (табл. 2.5.4.4). По величині відношення S/G клітини розміщуються в такому порядку: антиклінальні оболонки епідермісу > оболонки в кутках паренхіми > судини > паренхіма > периклінальні оболонки епідермісу.

ТАБЛИЦЯ 2.5.4.4. Вміст сиригінгу та гваяцилу в підводних листках *Myriophyllum spicatum*

| Тканина/оболонка | Інтенсивність флуоресценції складової лігніну, відн. од. | | Відношення вмісту сиригінг/гваяцил |
|-----------------------------|--|---------------------------|------------------------------------|
| | сиригінгу (тверда складова) | гваяцилу (м'яка складова) | |
| Епідерміс: | | | |
| периклінальна оболонка | 19 ± 0,7 | 48 ± 2,7 | 0,396 |
| антиклінальна оболонка | 140 ± 17 | 80 ± 7,9 | 1,75 |
| Паренхіма, 1-ий шар | 65 ± 5,7 | 50 ± 3,9 | 1,3 |
| 2-4-ий шари паренхіми | 30 ± 1,5 | 46 ± 2,7 | 0,65 |
| Оболонки в кутках паренхіми | 120 ± 11 | 70 ± 6,9 | 1,7 |
| Судини | 175 ± 18 | 125 ± 19 | 1,4 |

Potamogeton perfoliatus. Методом лазерної конфокальної мікроскопії показано, що сиригінг та гваякол, складові лігніну, виявляються в клітинних оболонках епідермісу, фотосинтезуючої паренхіми та судинах провідних пучків листків *P. perfoliatus* у фазі вегетативного росту. Комплекс ДФКК+сиригінг флуоресцював блакитним кольором, комплекс ДФКК+гваяцил – зеленим, відповідно (рис. 2.5.4.4). У клітинних оболонках другого-четвертого шарів паренхіми виявлені лише сліди складових лігніну. Відносний вміст гваяцилу в досліджуваних клітинах був вищим, ніж вміст сиригінгу (табл. 2.5.4.5), відношення сиригінгу до гваяцилу було найвищим в оболонках кутів паренхіми та судин, що свідчить про достатню жорсткість клітинних оболонок провідного пучка у порівнянні із епідермальними клітинами. За величиною відношення вмісту S/G клітини розміщуються в такому порядку: оболонки в кутках паренхіми > судини > периклінальні оболонки епідермісу > антиклінальні оболонки епідермісу > паренхіма.

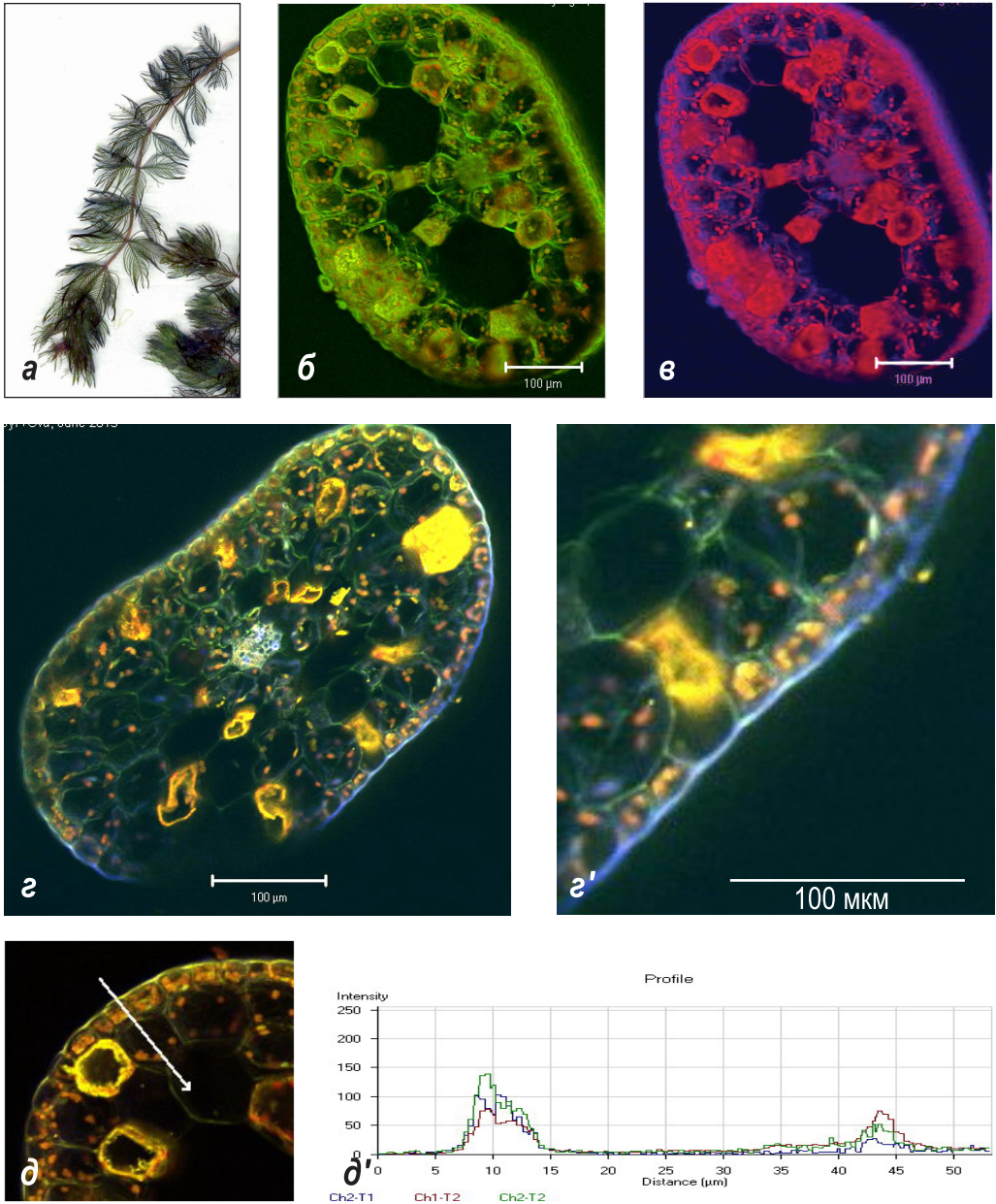


Рис. 2.5.4.3. Загальний вигляд підводних (а) листків *Myriophyllum spicatum* та цитохімічна флуоресценція складових лігніну в листках: б – гваяцилу; в – сиригілу; г та г' – гваяцил+сиригін. Комплекс ДФКК + сиригін у клітинних оболонках флуоресцює блакитним кольором; комплекс ДФКК + гваяцил – зеленим. На рис. д – гістограма інтенсивності флуоресценції гваяцилу (зелена лінія), сиригілу (блакитна лінія) та автофлуоресценції хлорофілу (червона лінія). Ордината – інтенсивність флуоресценції, відн. од. Абсциза – віддаль (мкм), яка була просканована на риунку; ця віддаль показана білою лінією. Масштаб = 100 мкм.

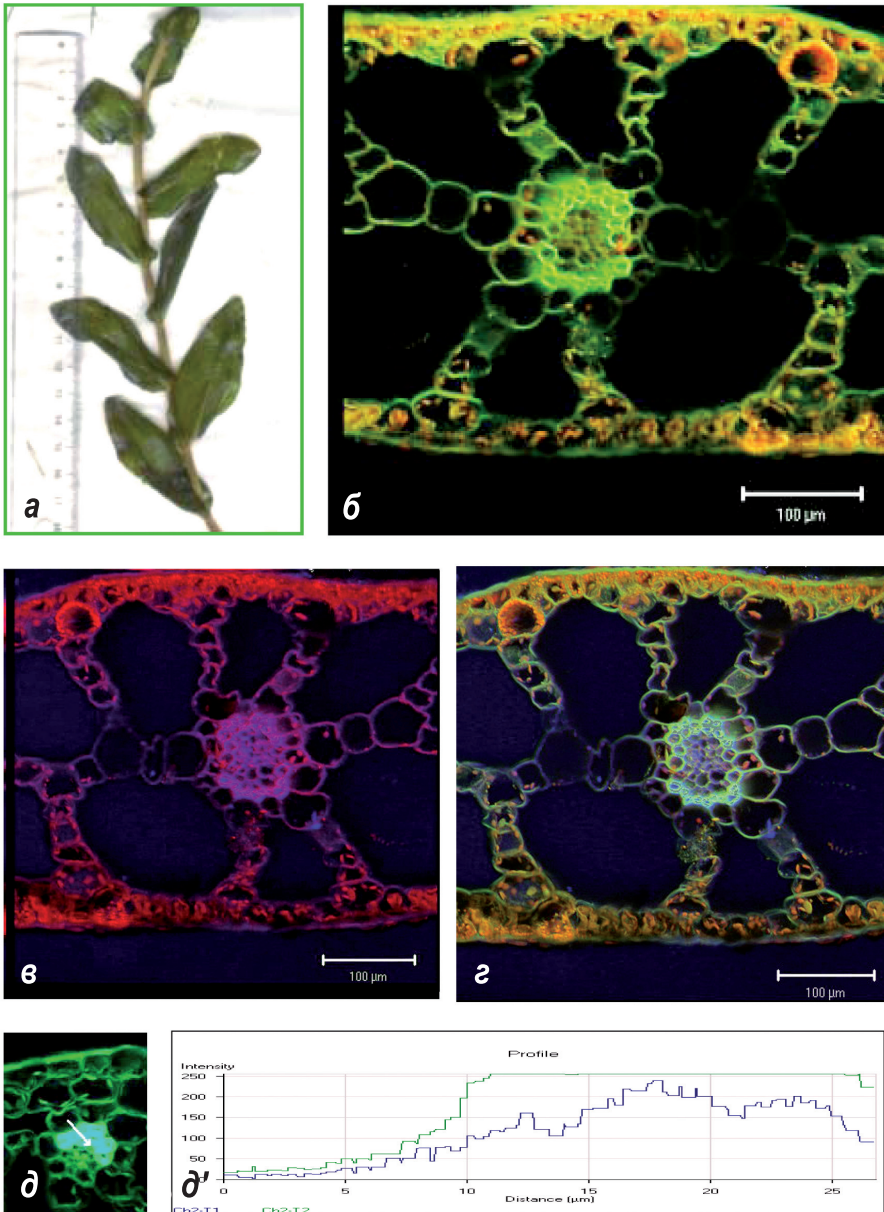


Рис. 2.5.4.4. Загальний вигляд підводних (а) листків *Potamogeton perfoliatus* та цитохімічна флуоресценція складових лігніну в листках: б – гваяцилу, в – сиригілу, г – гваяцил+сирингіл. Комплекс ДФКК + сирингіл у клітинних оболонках флуоресцює блакитним кольором; комплекс ДФКК + гваяцил – зеленим кольором, автофлуоресценція хлорофілу – червоним кольором. д' – гістограма інтенсивності флуоресценції гваяцилу (зелена лінія), сиригілу (блакитна лінія) в клітинних оболонках. Ордината – інтенсивність флуоресценції, відн. од. Абсциса – віддаль (мкм), яка була просканована на риунку д. Масштаб = 100 мкм.

ТАБЛИЦЯ 2.5.4.5. Вміст сиригїлу та гваяцилу в підводних листках
Potamogeton perfoliatus

| Тканина/оболонка | Інтенсивність флуоресценції складової лігніну, відн.од. | | Відношення вмісту сиригїл/гваяцил |
|-----------------------------|---|--------------------------|-----------------------------------|
| | сиригїл (тверда складова) | гваяцил (м'яка складова) | |
| Епідерміс адаксіальний: | | | |
| периклінальна об-ка | 32 ± 2,9 | 103 ± 13 | 0,31 |
| антиклінальна об-ка | 30 ± 3,7 | 176 ± 19 | 0,17 |
| Епідерміс абаксіальний: | | | |
| периклінальна об-ка | 47 ± 3,9 | 120 ± 13 | 0,39 |
| антиклінальна об-ка | 37 ± 4,5 | 255 ± 19 | 0,14 |
| Паренхіма, 1-ий шар | 30 ± 3,3 | 250 ± 13 | 0,12 |
| 2—4-ий шари паренхіми | Сліди | 25 ± 3,1 | - |
| Оболонки в кутках паренхіми | 147 ± 13 | 59 ± 7,2 | 2,49 |
| Судини | 215 ± 22 | 255 ± 21 | 0,84 |

Отже, цитохімічне вивчення складових лігніну, їх локалізація та вміст у листках досліджуваних видів повітряно-водних та справжніх гідрофітів показало як спільні, так і відмінні ознаки. Спільними ознаками були: 1) наявність сиригїлу та гваяцилу у досліджуваних видів незалежно від умов росту листків; 2) майже однакові (невисокі) значення відношення вмісту S/G у клітинах судин надводних листків стрілолиста; 3) найвищі значення відношення вмісту S/G для *Myriophyllum spicatum*; 4) певна полярність відношення вмісту S/G, що характерна для кожного виду.

Відмінними ознаками були: відносний вміст сиригїлу та гваяцилу, а також, відношення вмісту S/G у клітинних оболонках підводних і надводних листків стрілолиста звичайного.

Вважають, що зі збільшенням величини відношення вмісту S/G посилюється хімічний бар'єр для захисту клітини від проникнення води та інвазії патогенів (Menden et al., 2007). Крім цього, відомо, що ця ознака (S/G) свідчить про підвищення механічної міцності клітинних оболонок (Christiernin, 2006). Враховуючи, що листки, занурені у воду, постійно знаходяться в контактї із оточуючою водною мікрофлорою та численними водоростями, а також те, що такі листки витримують постійний тиск води та дію хвиль, можна припустити, що периклінальні та антиклінальні оболонки епідермісу підводних листків гідрофітів захищають поверхню клітин від екзогенного впливу водного оточення саме регуляцією синтезу складових лігніну.

Тобто, постійне водне оточення є одним з основних екзогенних факторів підвищеного синтезу синінгілу та гваяцилу в листках досліджуваних гідрофітів. Крім того, ми бачимо, що наявність синінгілу та гваяцилу, а також їх відношення в клітинних оболонках епідермісу, мезофілу та судинах провідних пучків корелює з даними, отриманими на дводольних покритонасінних (Weng et al., 2008; Vaucher et al., 1998). Ми не виключаємо, що клітинні оболонки підводних листків досліджуваних рослин містять і третій монолігнін – фенілпропанойд (*p*-гідроксифеніл), який відіграє суттєву роль у структурі лігніну.

Підсумовуючи цей розділ про вплив умов водного режиму рослин, зокрема, затоплення на структурно-функціональні зміни клітинних оболонок, а саме: на ультраструктуру оболонок, синтез целюлози, калози та лігніну, можна схематично представити хід основних подій, які відбуваються в апопласті більшості клітин (рис. 2.5.4.7), і стверджувати, що саме пластичність метаболітичних процесів, зв'язаних із кристалізацією целюлози, синтезом калози та складових лігніну, відіграють суттєву роль в адаптації вищих рослин до зміни водного режиму.

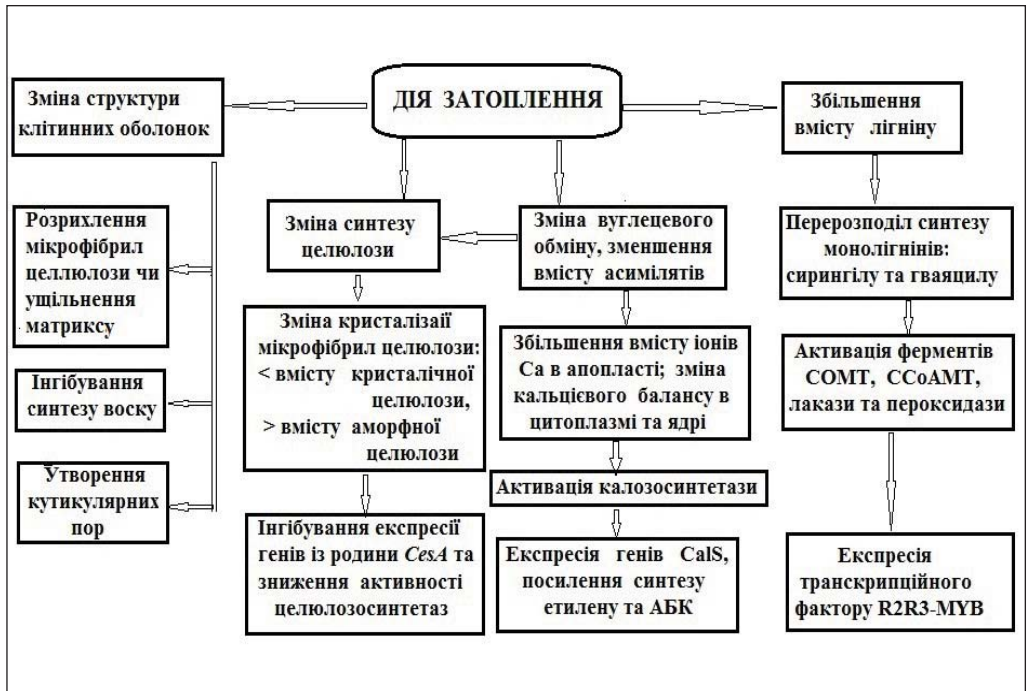


Рис. 2.5.4.7. Схематичне зображення основних структурно-функціональних змін клітинних оболонок рослин при адаптації до затоплення

2.6. ДІЯ БІОТИЧНИХ ФАКТОРІВ

Дію патогенів на рослини вивчає досить велика галузь біології – ЗАХИСТ РОСЛИН від біотичних організмів, що постійно оточують і співіснують із рослинними організмами. Відомо, що захист рослин від дії біологічних патогенів забезпечується на всіх рівнях організації: популяційному, видовому, органному, тканинному, клітинному та молекулярному. Дослідження багатокомпонентної системи захисту рослини проти патогенів викладені в численних монографічних виданнях та літературних оглядах (Дмитриев, 2000; Agrois, 1988; Buchel, Linthorst, 1999; Boller, 1995; Boller, Felix, 2009; Keen, 1990). Тому в цьому розділі ми лише коротко зупинимось на головних природних механізмах стійкості та адаптаційної ролі клітинних оболонок, які є основними компонентами захисту рослини від вторгнення патогенів.

Під час подолання мікроорганізмами–патогенами зовнішніх бар'єрів рослинної клітини (кутикулярного, суберинового, целюлозного та ін. шарів оболонки) рослинна клітина повинна відчувати небезпеку й включити систему реагування. Рослина розпізнає певні молекули (елісители), притаманні мікроорганізмам (MAMPs, *microbe-associated molecular patterns*), як сигнал, що запускає імунну систему. До фізіологічних реакцій рослин на інфікування патогеном відносять утворення некротичних зон у місці контакту зі збудником, швидкий окисний вибух, при якому відбувається окислення ліпідів (Аверьянов, Ланикова, 1995). Формування захисної відповіді пов'язано з утворенням сигнальних молекул в інфікованих клітинах та передачею цих сигналів неінфікованим клітинам, в яких вони індуюють захисні реакції. До сигнальних молекул відносять перекис водню, саліцилову кислоту, жасмонову кислоту та метиловий ефір жасмонової кислоти, етилен, олігосахарини та системін (Дмитриев, 2000; 2003).

На цей час уже виявлено ряд речовин патогенів, які також є сигнальними молекулами: флагелін, фактор елонгації бактерій, хітин, глюкан, ксиланаза, деякі ліпофільні речовини, такі, як арахідонова кислота та ергостерол. Сигнал може породжуватися й речовинами, які утворюються в результаті руйнації рослинної клітини патогеном, а саме, фрагментами кутикули чи іншими складовими клітинної оболонки (DAMPs, *damage-associated molecular patterns*). Сигнали, що поступають від MAMPs/DAMPs, сприймаються клітиною за допомогою рецепторів (PRRs, *pattern recognition receptors*), кіназ, що збагачені повторностями лейцину (LRR-RK, *leucine-rich repeat-receptor kinase*) та запускаючих систему імунного захисту (Boller, Felix, 2000).

При інфікуванні рослин патогени виділяють ферменти: полігалактуронази та пектатліази, які лізують клітинну оболонку рослини-хазяїна. У рослині спрацьовують захисні механізми, а саме активуються рецептори, специфічні молекули, які названі елісителями. Пізнання еліситорів призводить до активації захисних шляхів у рослинній клітині, насамперед до синтезу інгібуючого ферменту полігалактуронази (*polygalacturonase inhibiting protein*,

PGIP), який є захисним білком, що визначає синтез олігогалактуронідів (Montesano et al., 2003; Nurnberger et al., 2004).

У більшості випадків захисні механізми рослини є конституційними. Це є комбінація фізичних і хімічних бар'єрів; у рослинній клітині синтезуються фітоалексини, які представляють собою молекули, що діють проти інвазії патогену в клітину. Крім цього, у рослинній оболонці починається укріплення, що виражається в поперечному зв'язуванні основних полісахаридів оболонки лігнінами, синтез інгібіторів протеїназ та білків, що інгібують полігалактуроназу патогену. Це і є захисний механізм, який індукується при інфекції. Через кілька хвилин після атаки патогеном, клітина, що контактує з ним, може загинути, цей механізм названо гіперчутливою відповіддю (GR), тоді як захисна відповідь починається лише через кілька годин після інвазії. Патогени часто локально розносять ефектори, які сприймаються клітиною-хазяїна двома шляхами:

- 1) Формуванням авірулентного гену (Avr), який діє, як еліситор, він є специфічним та унікальним для певного патогену; тоді розвивається мікробна адаптація. Відповідно до теорії «ген на ген» стійкість клітини залежить від наявності специфічних продуктів авірулентного гену патогену та специфічних генів резистентності в рослині-хазяїна (Keen, 1990);
- 2) Якщо ефектори не є специфічними еліситорами, які активують різні типи клітин, то це призводить як до активації численних систем патогену, так і до активації певних речовин і молекул у рослині, яка захищаючись, активує свої захисні (Boller, 1995).

При інвазії грибами рослинних клітин, гриби синтезують ферменти для лізису рослинної клітинної оболонки, а саме пектиназу-полігалактуроназу (PG), яка викликає фрагментацію та розчинність гомогалактуронанів клітинних оболонок рослини-хазяїна (De Lorenzo et al., 2001). Крім цього, ферменти патогену (PG) можуть також викликати значну кількість захисних відповідей, як накопичення фітоалексинів (Favaron et al., 1992), інгібіторів протеїнази (Walker-Simmons, Ryan, 1984), формування лігніну (Robertson, 1987), синтез і активацію пероксидаз та 1-3- β -глюканаз (Lafitte et al., 1993), або ж утворення справжніх еліситорів для захисної відповіді (Bruce, West, 1989).

При дії патогенної полігалактуронази (PG) рослинна оболонка на ранній стадії захисту синтезує білок, збагачений лейцином (LRR leucine rich repeat protein), що інгібує бактеріальну PG. Білок, збагачений гліцином, названо полігалактуроназо-інгібуючим білком (polygalacturonase inhibiting protein, PGIP), який зв'язується з полігалактуроназою патогену. У самій рослинній клітині цей білок знижує деградацію пектинів та сприяє синтезу активних еліситорів (active elicitors, OGs) (Dixon, Lamb 1990). Встановлено, що захисні білки LRR кодуються родиною генів. У *Arabidopsis thaliana* виявлено два таких гени (*AtPGIP1* та *AtPGIP2*), які активуються у відповідь на інфекцію *Botrytis cinerea* (Ferrari et al., 2003). У рослинній оболонці при цьому також синтезується олігогалактуроніди, які є еліситоро-активними речовинами (рис. 2.6.1), неспецифічними елісисорами. Такі олігогалактуроніди характеризуються невисоким ступенем полімеризації (10-15), залучують активацію іонних потоків і викликають суттєві зміни фізико-хімічних параметрів мембран за допомогою притоку протонів (H^+) та витоку іонів калію (K^+).

Крім того, олігогалактуроніди також впливають на вхід та вихід іонів кальцію в апопласт, вони викликають активацію Ca^{2+} -АТФази та індукують окисний вибух (Romani et al., 2004). До того ж, може відбуватися формування активних форм кисню в оболонці (H_2O_2 та O_2^-), які через свою токсичність та за рахунок їх ролі в непрямій сигналізації викликають гіперчутливу відповідь рослинної клітини й навіть її загибель. Це було показано на суспензійній культурі клітин сої (Legendre et al., 1993), тютюну (Binet et al., 1998) та томатів (Stennis et al., 1998).

Т. Болер та Дж. Фелікс (Boller, Felix, 2000) описали наступну послідовність подій в рослинній клітині при дії еліситорів. Як тільки клітина впізнає еліситор патогену, через кілька хвилин змінюються потоки іонів через цитоплазматичну мембрану, відбувається підвищення вмісту іонів кальцію в цитоплазмі, що активує кальцій-залежні протеїнкінази (MAPKs, *mitogen-associated protein kinases*) (Suarez-Rodriguez, et al., 2010), які передають сигнали в процесі фосфорилування/дефосфорилування. Після цього підвищується рівень активних форм кисню, які, як антибіотичні агенти, можуть виступати вже вторинними стрес-сигналами, що індукують захисні реакції рослинної клітини.

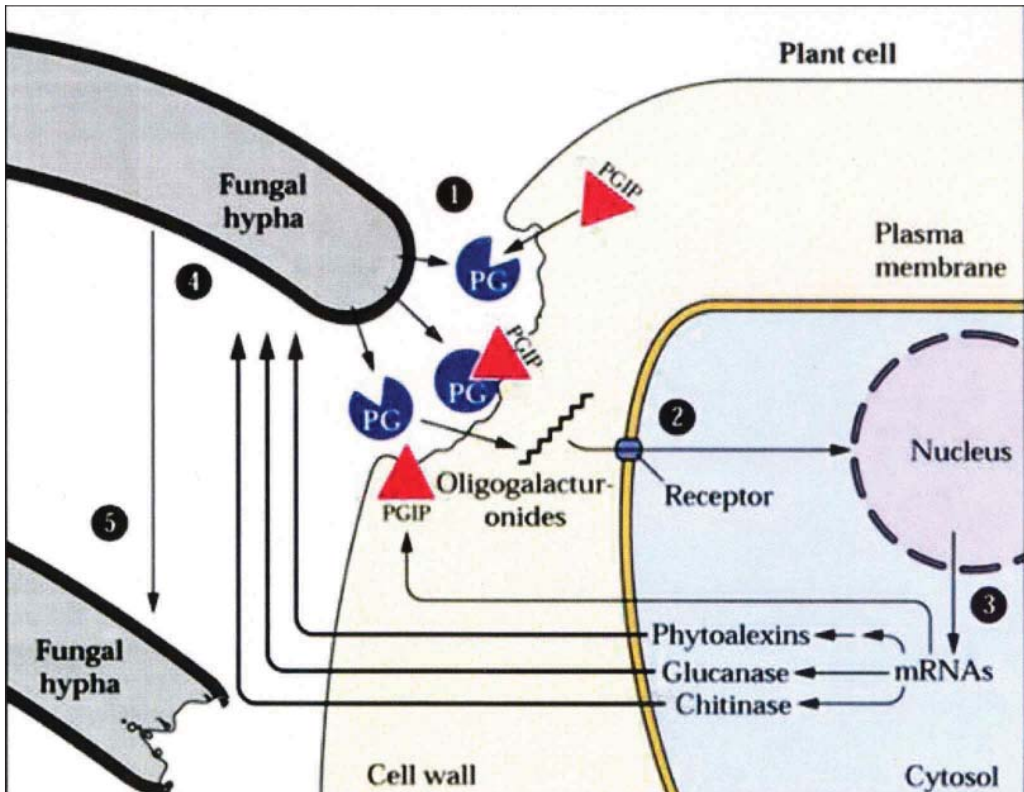


Рис. 2.6.1. Модель роботи полігалактуронази патогену, як компонента сигнальної системи клітинної оболонки, що викликає формування еліситор-активованих олігогалактуронідів (Spadoni, 2005). Позначення: PGIP-полігалактуроназа, інгібуючий білок рослинної клітини-хазяїна, PG –полігалактуроназа патогена

На рослинах арабідопсісу показано, що після їхньої обробки патогенним олігогалактуронідом, у клітинних оболонках рослини синтезуються такі білки: At4g37800 ендоксилоглюкантрансфераза, At4g78820 куркулінподібний білок, At4g37800 ксилоглюканендо-1,4-глюканаза, At3g32980 пероксидаза та At4g39260 білок, збагачений гліцином. Крім того, показано на арабідопсісі, що неетерифіковані пектини здатні зв'язувати PGIP при кислому значенні рН, і тоді іони кальцію також здатні до зв'язування. Ca^{2+} потребує оптимального зв'язування з PG, вказуючи на розподіл негативних змін гомогалактуронану (Spadoni, 2005).

Участь лігніну в захисті клітини. Лігнін та лігнінподібні феноли служать захистом рослини при різних хворобах, викликаних дією патогенів (Lattanzio et al., 2006). Лігнін створює механічний бар'єр при атаці патогенів, що інфікують рослини (Vance et al., 1980; Nicholson, Hammerschmidt, 1992; Zeyen et al., 2002). Патогени лізують лігнін клітинних оболонок рослини-хазяїна, і як вважають дослідники, саме це прискорює транспорт води та розчинних речовин від клітини-хазяїна до патогену (Vincenzo Lattanzio, Cardinali, 2006).

Кілька авторів показали зміни у вмісті лігніну при грибній атаці. Інфікування *Pinus nigra* патогеном *Sphaeropsis sapinea* індукувало збільшення вмісту лігніну (Bonello, Blodgett, 2003). Відклади лігніну спостерігаються й у некротичній перидермі на ранніх стадіях інфікування експлантів *Mycosphaerella* із великою стійкістю до *E. nitens*. Фізіолого-молекулярні дослідження ксилемної тканини *Ulmus minor* та *Ulmus minor* x *Ulmus pumila* після інюкуляції патогеном *Ophiostoma ulmi* показали, що гібрид має сильну захисну реакцію, яка супроводжувалася збільшенням вмісту лігніну, який гальмував інвазію патогену в клітину-хазяїна (Martin et al., 2007).

На сьогоднішній день встановлено, що пероксидази апопласта можуть зв'язуватися із полісахаридами оболонки іонними та ковалентними зв'язками. Раніше вважали, що пероксидази клітинних оболонок беруть участь лише в синтезі лігніну, поперечно зшиваючи монолігніни. Проте С. Бествіком зі співавторами виявлена секреція пероксидази в клітинних оболонках листків тютюну при грибній інфекції (Bestwick et al., 1997). В 1998 році цитохімічними методами ними було показано локалізація пероксидазної активності в клітинних оболонках неінюкульованих тканин листків салату та в тканинах, що були вражені бактеріальним патогеном (Bestwick et al., 1998). Ж. Болвел зі співавторами показали, що пероксидази клітинних оболонок відповідають за утворення перекису водню при розвитку окисного вибуху у відповідь на дію елісатора з патогенного гриба в клітинах квасолі (Bolwell et al., 1998).

Вивчення лігніну та його складових при патогенезі однодольних, зокрема, при патогенезі *Blumeria graminis* sp. *tritici* (*Bgt*) листків диплоїдної пшениці показало, що у відповідь на дію патогену в клітинах листків починається експресія біосинтетичних генів, які індукуються інфікуванням. Використовуючи метод RNAi гену, що мовчить (gene-silencing), автори показали, що біосинтез монолігнінів відіграє критичну роль у відкладах клітинної

оболонки при враженні шениці грибною россою. При враженні патогеном місця-атаки клітинних оболонок характеризувалися зниженням автофлуоресценції оболонки. Автори показали, що мовчазні гени монолігніну проникають у стійкі форми пшениці (Bhuiyan et al., 2009).

Раніше було встановлено, що стресорні гени *F5H* чи *CAOMT*, які лишаються при перетворенні гваяцилу (G) у сирингілові одиниці (S), значно знижують відношення S/G, але мало впливають на загальний вміст лігніну (Li et al., 2008; Franke et al., 2002). Згідно гіпотези Н. Буяна зі співавторами: мовчазний ген *TmCAOMT* мав більш ефективний шлях серед усіх індивідуальних генів, що підвищували проникненість у середину стійких до патогену ліній пшениці, для котрих характерна наявність метилюванню при формуванні клітинної оболонки (Bhuiyan et al., 2009). Встановлено (Bhuiyan et al., 2007; 2009), що *CAOMT* каталізує синтез синапового спирту, який є попередником сирингілових (S) одиниць (Voerjan et al., 2003; Li et al., 2008), тоді як *CCoAOMT*, очевидно, необхідний для синтезу гваяцилових (G) одиниць, ніж для синтезу сирингілу (Li et al., 2008). Дослідники показали, що мовчазний ген *TmCAOMT* збільшує проникненість патогену *Bgt* у резистентних ліній пшениці. Усе це підтверджує гіпотезу, що сирингіловий лігнін (S-лігнін) відіграє головну роль у відкладах клітинної оболонки при захисті від дії патогену (Bhuiyan et al., 2009).

У дводольних, зокрема, у мутанта *A. thaliana*, при втраті окремих генів (*C3H ref8*), що відповідають за синтез монолігнінів, при інфікуванні патогенами спостерігали зниження вмісту лігніну (на 20-40%) (Franke et al., 2002).

Участь калози в захисті кітини. При враженні патогенами чи механічному пораненні листків та стебел уже через кілька хвилин в епідермальних клітинах синтезується полісахарид калоза (Nakashima et al., 2003). Інтенсивність формування калози залежить від виду патогену, типу тканин та органа рослини-хазяїна (Saheed et al., 2007). При патогенезі калоза формує на поверхні клітини калозну папілу, що являє собою, у першу чергу, механічний бар'єр між оболонкою та плазмалемою. Крім цього, у клітинах починають синтезуватися фітоалексини, антимікробні токсини, фенольні речовини, пектини, целюлоза, суберин, ліпіди та специфічні для оболонки білки (Дмитриєв, 2000; 2003). Калоза відкладається не тільки вздовж оболонки, але й у плазмодесмах, закриваючи шлях транспорту патогену із клітини в клітину (Li et al., 2012). Крім цього, інтенсивні відклади калози спостерігаються й у оболонках ситовидних пластинок (Нао et al., 2008). У такий спосіб калоза запобігає проникненню бактерій (Yun et al., 2006), патогенних грибів (Ху, Jackson, 2010), комах (Kusnierczyk et al., 2008), нематод (Hofmann et al., 2010) чи вірусів (Li et al., 2012) у клітину-хазяїна.

Синтез калози при інфікуванні може відбуватися дуже швидко. Так, у листках ячменю, інфікованих тлею, вже після першої доби інфікування виявили значні відклади калози в ситовидних трубках, плазмодесмах та оболонках провідних пучків листків (Saheed et

al., 2007). При патогенезі збільшується концентрація АБК, що гальмує транскрипцію генів β -глюканази, активує транспорт калозосинтетази до місця, де патоген атакує клітину, та викликає активацію інших захисних механізмів рослини (Clay et al., 2009). При патогенезі в клітині-хазяїна синтезується олігогалактуронідний еліситор, який спричиняє зміни в цитоплазмі: зниження рН цитоплазми та збільшення вмісту іонів кальцію (Mathieu et al., 1991), що активують калозосинтетазу (Kauss, 1985).

Підсумовуючи результати вищенаведених численних експериментальних робіт по вивченню захисної ролі клітинних оболонок рослин при дії патогенів, ми можемо схематично представити перебіг основних подій у клітині-хазяїна (рис. 2.6.2).

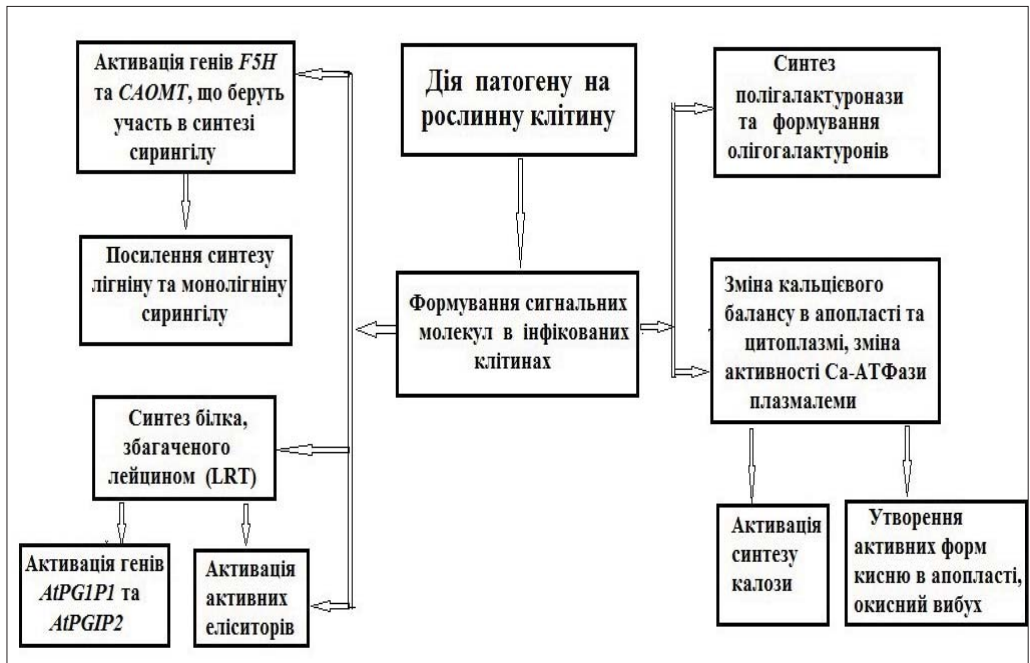


Рис. 2.6.2. Схема основних біологічних ефектів та можливих механізмів впливу патогенів на клітинні оболонки рослини-хазяїна

При посиленій патогенності рослинної клітини, рослина-хазяїн може загинути, клітинні оболонки її тканин вже не здатні виступати ланкою захисту. Прикладом патогенності, тобто здатності патогену викликати хворобу (кореневу й стеблову гниль) та загибель рослини, є дія факультативного сапрофіту *Phytophthora sojae*, який виділяє патотоксини, що руйнують клітини. Експериментальні дані дослідження дії сапрофіту *Phytophthora sojae* на ультраструктурному рівні ми наводимо нижче. На патогенність можуть впливати оточуючі умови росту рослини, у тому числі й мікрогравітація (Nedukha et al., 1999; Кордюм, Чепмен, 2007). Встановлено, що навіть короткотривала дія мікрогравітації значно посилювала патогенність сапрофіту. В експериментах по вивченню

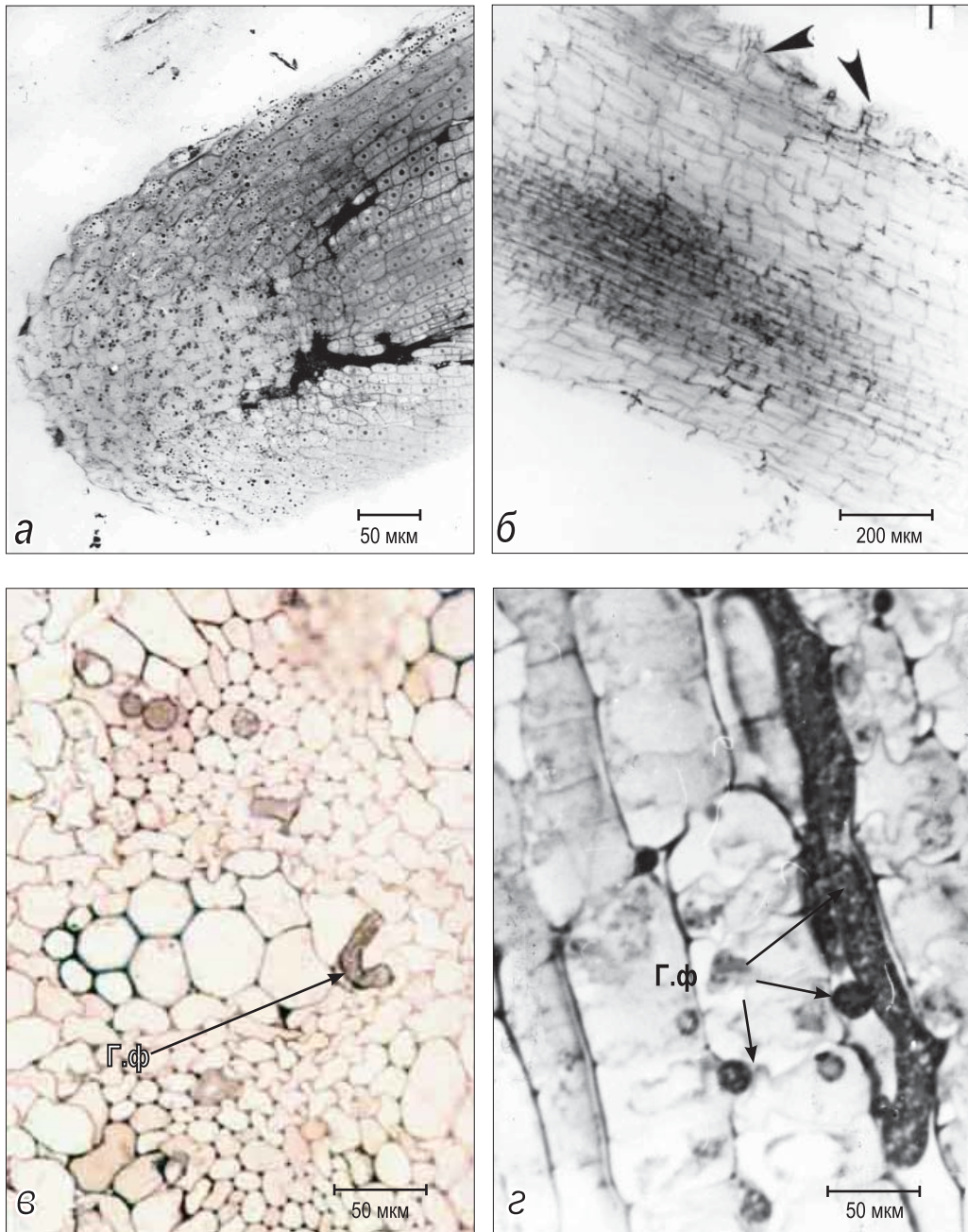


Рис. 2.6.3. Повздовжні (**а, б**) та поперечні зрізи різних зон кореня сої: **а** – чохлак та меристема, **б** – зона кореневих волосків (ЗКВ), волоски вказані стрілками; **в** – центральний циліндр у ЗКВ та **г** – клітини кори у ЗКВ; **а, б** – неінфіковані корені, наземний контроль; **в, г** – інфіковані патогеном (фітофторою) корені, космічний варіант. Позначення: *Г.ф.* – гіфи фітофтори (Nedukha et al., 1999; Leach et al., 2001)

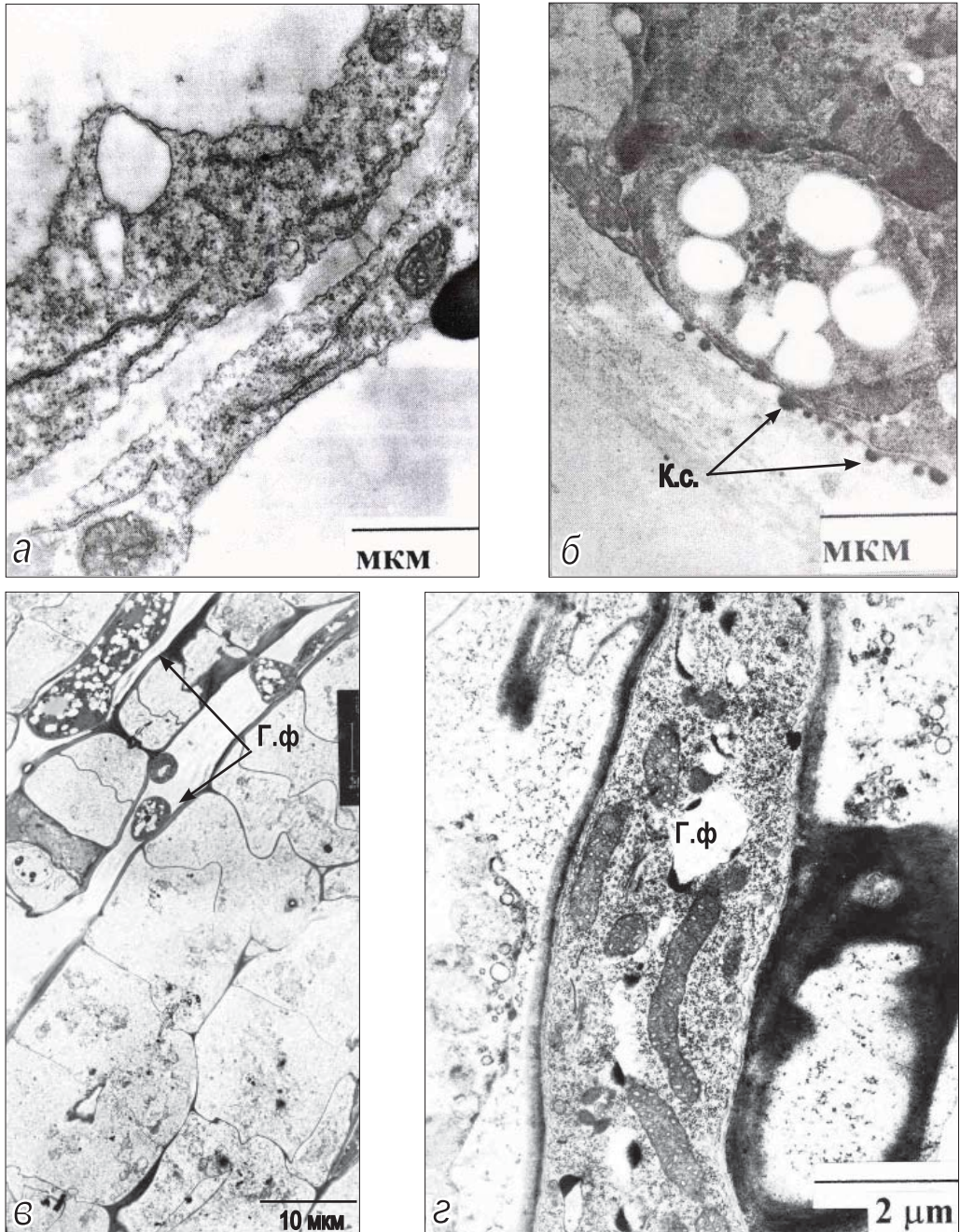


Рис. 2.6.4. Фрагменти клітин кори (а, в, г) в зоні корневих волосків та клітин епідермісу (б) у дистальній зоні розтягу проростків сої: а – наземний неінфікований контроль; б - наземний інфікований контроль; в та г – польотні інфіковані зразки, в клітинах яких видно інтактні гіфи патогену (Г.ф.) та повністю зруйновану цитоплазму клітин-хазяїна. Позначення: Г.ф. – гіфи фітофтори, К.с. – кальцієві сайти (Nedukha et al., 1999; Leach et al., 2001)

впливу мікрогравітації на патогенез та захисні реакції тканин коренів *Glycine max* (сорт Williams 82), що були інфіковані *P. sojae* (раса R25) в умовах реального космічного польоту, показано, що на 6-ту та 7-му добу після інокуляції патогеном 71 % проростків, що росли в умовах мікрогравітації, характеризувались наявністю ознак хвороби, тоді як у наземних проростків, інокульованих патогеном, тільки 56 % рослин мали ознаки хвороби. У коренях сої виявлені ооспори та гаусторії *P. sojae*, щільність яких була достовірно вища у польотних зразках в зоні розтягу та зоні корневих волосків (Nedukha et al., 1999; Ryba-White et al., 2001; Leach et al., 2001). Встановлено залежність інвазії патогену від тканини кореня (табл. 2.6.1).

ТАБЛИЦЯ 2.6.1. Кількість клітин коренів сої, інфікованих патогеном *P. sojae* після шести діб інокуляції (Ryba-White, Nedukha, et al., 2001)

| Зона/тканина кореня | Відсоток клітин коренів сої, в яких виявлено патоген, %* | |
|-----------------------|--|----------------------|
| | у космічному польоті | у наземному контролі |
| Апекс | | |
| колумела | 34* | 0 |
| меристема | 33* | 0 |
| Зона розтягу | | |
| епідерміс | 21* | 0 |
| екзодерма | 31* | 0 |
| кора | 22* | 0 |
| Зона коревих волосків | | |
| епідерміс | 4* | 4 |
| екзодерма | 0** | 0** |
| кора | 100* | 13 |
| флоема | 100* | 9 |
| ксилема | 50* | 5 |

*- Патоген був виявлений у клітинах або міжклітинному просторі;

** - клітини екзодерми були повністю зруйновані, але гіфи патогену в таких клітинах не виявлені.

Встановлено, що у коренях, інокульованих патогеном, відсоток інфікованих клітин при порівнянні з такими у відповідних наземних зразках був значно вищим. Найбільш уразливою до дії патогену виявилась зона корневих волосків. Базуючись на даних світлової (рис. 2.6.3) та електронної мікроскопії, ми виявили у всіх зонах коренів руйнацію цитоплазми клітин-хазяїна (рис. 2.6.4), потоншення клітинних оболонок, розпушення мікрофібрил целюлози, а також наявність гіфів у цитоплазмі зруйнованих клітин-хазяїна

та в міжклітинниках. Наявність гаусторій у такому зв'язку патоген-рослинна клітина є ознакою паразитизму грибів. Дослідження ультраструктури клітин меристеми головного кореня, інфікованого патогеном в умовах космічного польоту показало, що при порівнянні зі структурою меристеми кореня рослин, інфікованої в умовах земного контролю, виявлені значні деструкційні зміни клітин, а саме, руйнація оболонки, збільшення об'єму периплазматичного простору, деструкція цитоплазматичних органел (рис. 2.6.4, в, з), тоді як в меристематичних клітинах та клітинах зони розтягу коренів рослин, інфікованих патогеном рослин, в наземному контролі спостерігали лише часткову деструкцію клітин та наявність кальцієвих сайтів, зв'язаних з цитоплазматичною мембраною та ендомембранами (рис. 2.6.4, б). Також показано наявність часткової деструкції мембран у клітинах меристеми та зони розтягу коренів сої, інфікованих патогеном (в умовах Землі), що є типовими ознаками хвороби та початку некрозу. Останнє характерно для рослинних клітин при інших стресах, а також свідчить про появу ознак, які відомі, як ознаки «кальцієвої» смерті (Белявская, 1994). Очевидно, при інвазії клітин проростків сої патогеном *P. sojae* відбувається серія подій, перші із яких – це лізис клітинних оболонки, порушення кальцієвого балансу апопласту та цитоплазми, а також зміни транспортних функцій цитоплазматичної мембрани клітини-хазяїна.

2.7. ЕФЕКТИ МІКРОГРАВІТАЦІЇ, КЛІНОСТАТУВАННЯ ТА ГІПЕРГРАВІТАЦІЇ

2.7.1. Мікрогравітація

Відомо, що гравітація Землі впливає на всі живі організми. Цей вплив проявляється на всіх рівнях організації: клітинному, тканинному та організменому (Дубинин, Ваулина, 1976). Органи, тканини та клітини, що змінюють свою структуру та метаболізм під дією гравітації названі «антигравітаційними» (Белканиа, 1982). У тварин – це клітини та тканини скелетно-м'язової та кровоносної систем, у рослин – це клітини механічних, епідермальних та провідних тканин, які відповідають за цупкість та просторову орієнтацію і є антигравітаційними (Дубинин, Ваулина, 1976; Молотковский, 1961; Раздорский, 1955). На клітинному рівні саме клітинна оболонка рослин відповідає за механічну міцність, розтяг та еластичність клітин і тканин. Тому логічно, якщо синтез та орієнтація клітинних оболонок відбувається під постійним впливом гравітаційних сил Землі, то зміни у величині цієї сили повинні впливати на клітинні оболонки рослинних організмів. Так як гравітація на Землі є постійною, то її вплив чи її відсутність в звичайних земних умовах до останнього часу неможливо було вивчати. З розвитком космічних досліджень та виходу людини поза земну орбіту такі дослідження стали реальними.

За останні десятиріччя досягнуто значних успіхів в галузі космічної біології. Основна мета космічної ботаніки пов'язана із створенням біологічних систем життєзабезпечення космонавтів при тривалих польотах, що є одним з основних завдань космічної фітобіології (Сытник, Кордюм, 1986; Кордюм и др., 1994; Черевченко, Заіменко, 1998; 2003). В умовах космічного польоту на організм діє комплекс таких чинників: вібрація, перевантаження, космічні випромінювання (радіація, протони, важкозаряджені частинки) і мікрогравітація. Дія цих факторів під час космічного польоту безперервна і практично незмінна, а рослини у онто- і філогенезі не зустрічалися з ними. Тому вивчення дії невагомості на життєдіяльність живих систем у відкритому космосі має і теоретичне значення для пізнання ролі гравітаційних сил у виникненні і еволюції живого на Землі і реалізації життєвих процесів (Гуровский и др., 1979).

Відомо, що на орбітальних станціях невагомість не є абсолютною. Величина гравітаційного прискорення на орбіті становить від 10^{-9} до 10^{-5} g. Ця величина в 10-100 разів менше, ніж гравітаційна чутливість рослини (Меркис, 1973). Так, як клітинні оболонки рослин є антигравітаційними структурами, що здатні змінюватися у відповідь на мікрогравітацію, то дослідження їх структурно-функціональних характеристик під час росту клітин, а також вивчення рослини, як одного з основних компонентів біологічних систем життєзабезпечення астронавтів на орбіті та космічних польотах, стало одним із головних завдань космічної фітобіології.

Первинні оболонки

Відомо, що первинна клітинна оболонка утворюється в процесі цитокінезу. Дослідження формування первинної оболонки можна прослідкувати на модельній системі – ізольованих протопластах, які використовують у численних цитофізіологічних та генетичних дослідженнях, а також для вивчення регенерації клітинної оболонки. Протопласти отримують шляхом ферментативного лізису клітинної оболонки. Показано, що в процесі регенерації оболонки протопластами спочатку синтезуються полісахариди матрикса, пізніше целюлоза; полісахаридів матрикса в регенерованих оболонках значно більше, ніж целюлози (Лозова, 1987).

Регенерація клітинної оболонки протопластами. Багатьма дослідниками показано можливість використання в космічних експериментах культури протопластів. В експерименті «Protodyn» досліджувалася роль гравітації у формуванні клітинної оболонки протопластами *Daucus carota* та *Brassica napus*, які культивували протягом 14 діб на борту біосупутника «Biokosmos 9» (вересень 1989) (Iversen et al., 1992; Klimchuk et al., 1992; Rasmussem et al., 1992; Таирбеков и др., 1992). Протопласти інших видів, а саме *Nicotiana tabacum* та *N. rustica*, які також культивували 10 діб на борті D-2 Spacelab Mission (квітень-травень 1993) та в лабораторних умовах на Землі (Hoffmann et al., 1994), показали життєздатність та спроможність регенерації клітинних оболонок як на орбіті в умовах мікрогравітації, так і в умовах наземного контролю (при 1 g).

Паралельно було встановлено зниження росту ізольованих протопластів на 44 та 18 % під дією мікрогравітації в *Daucus carota* та *Brassica napus*, відповідно. Методом трансмісійної електронної мікроскопії показано, що клітинна оболонка, яка регенерувалася в протопластів, за структурою була подібна такій у контрольних зразках, хоча товщина первинних оболонок, що сформувалися на орбіті була удвічі меншою, ніж у контролі (Klimchuk et al., 1992; Таирбеков и др., 1992). Порівняння інтенсивності включення ¹⁴C-глюкози в новосинтезовані оболонки навколо протопластів показало незначне інгібування включення радіоактивної мітки в целюлозу та геміцелюлози в польотних зразках у порівнянні з наземним контролем (Горшкова и др., 1985). Біохімічними методами встановлено, що вміст целюлози в регенерованих оболонках моркви був в 3,5 раза меншим, геміцелюлоз – в 1,5-1,6 раза у обох видів, тоді як вміст пектину не змінився під дією мікрогравітації (Klimchuk et al., 1992). Цей феномен автори пояснюють можливим впливом мікрогравітації на проліферативну активність та інтенсивність росту протопластів. Відомо, що синтез целюлози залежить від активності целюлозосинтез, а активність геміцелюлоз – від активності ксиланосинтез (Aloni et al., 1982). Це дає змогу припустити, що інгібування синтезу первинної оболонки протопластами в умовах реального космічного польоту обумовлене порушеннями синтезу чи змінами активності ферментів, що беруть участь у синтезі полісахаридів матрикса та целюлози.

Використання горизонтального кліноштату (2 об/хв.) для вивчення формування оболонки протопластами (*Brassica oleracea* та *Solanum tuberosum*) показало, що тривалість цього процесу залежала від виду та тривалості культивування (Недуха и др., 1996).

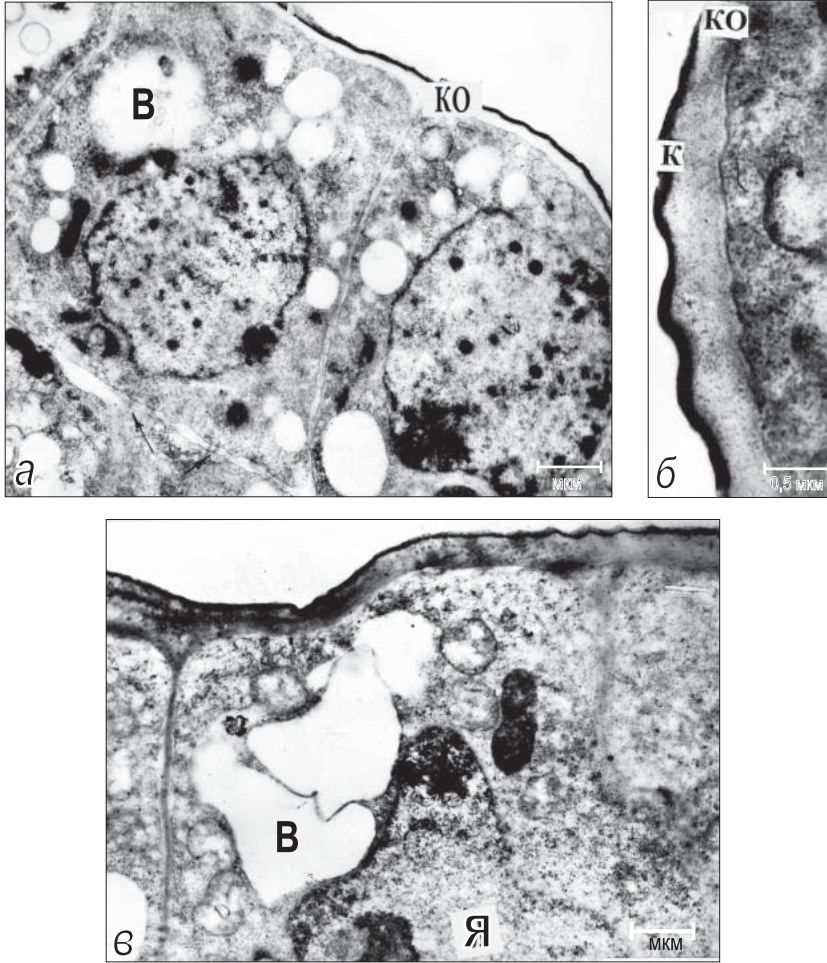


Рис. 2.7.1.1. Фрагменти клітин першого шару апікальної меристеми (туніки) вегетативного пагона бальзаміну: **а, б** – контроль; **в** – космічний політ. Позначення: В – вакуоль, КО – клітинна оболонка, К – кутикула, Я – ядро

Ціохімічними методами (із використанням калькофлуору та анілінового синього – маркерів-флуорохромів для ідентифікації целюлози та калози) показано, що на 7-му добу культивування протопластів *Brassica oleracea* на кліноштаті тільки у 50,5 % протопластів відбувалася регенерація оболонки, що містила целюлозу, тоді як калоза виявлена майже у 87 % протопластів; в той же час, у контрольних зразках ці дані були вищими і становили 91,2 та 85,2 %, відповідно.

Отримані результати свідчать про те, що в умовах імітованої мікрогравітації синтез калози в новосформованих клітинних оболонках проходить значно інтенсивніше, ніж синтез целюлози. Новосформовані клітинні оболонки в протопластів обох видів були значно тоншими, ніж у контролі. Механізм такого феномену можна пояснити таким чином. Експериментально виявлено, що застосування інгібітору мембранної текучості (0,25 mg/l, cholesteryl hemisuccinate) у дослідах із регенерації оболонки протопластами *Boergesenia forbesii* при їх кліноостатуванні, показало пряму залежність синтезу регенеруючої оболонки від текучості плазмалеми (Legge, Brown, 1988). Це підтверджує думку про те, що при кліноостатуванні відбуваються зміни фізико-хімічних властивостей цитоплазматичної мембрани протопластів та пригнічення процесу екзоцитозу попередників полісахаридів матриксу оболонки, а також попередників синтезу целюлози, що й впливало на синтез полісахаридів первинної клітинної оболонки.

Оболонки меристематичних клітин. Робіт по вивченню клітинних оболонок меристематичних тканин у рослин, що росли за дії мікрогравітації поки недостатньо. Дослідження клітин апікальної меристеми коренів та стебел проростків *Zea mays*, що росли на космічному кораблі «Columbia» (61С), показало, що клітинні оболонки були значно тоншими, ніж у наземних контролів (Moore, 1988). Ці відхилення супроводжувалися змінами відносного об'єму цитоплазматичних органел, включаючи диктіосоми апарату Гольджі, що беруть участь у синтезі та транспорті попередників полісахаридів оболонки.

Потоншення оболонок виявлено в першому шарі туніки (апикальної меристеми) стебел проростків *Impatiens balsamina*, що росли 13 діб на біосупутнику («Космос-1887») (Недуха и др., 1991, а; 1992). Порівняльне дослідження ультраструктури апікальної меристеми туніки стебел паростків бальзаміну в наземному контролі та польотному варіанті дозволило також виявити посилення вакуолізації клітин першого та другого шарів туніки, зміни в структурі ядер і клітинних оболонок (рис. 2.7.1.1). Якщо в контрольних клітинах округлої форми ядро займало центральне положення, містило невеликі глибки щільного хроматину (рис. 2.7.1.1, а), то в польотних зразках – ядра мали лопатеву форму і характеризувались збільшенням вмісту щільного хроматину та зменшенням розміру ядерця (Недуха и др., 1991, а). Окрім цього, найбільш лабільними за дії мікрогравітації виявились зовнішні клітинні оболонки першого ряду туніки, які характеризувались потоншенням як самих оболонок, так і кутикулярного шару, зниженням його електронної щільності (рис. 2.7.1.1, б, в) (Недуха и др., 1991, а). Це дозволило зробити висновки про наявність ознак гравічутливості досліджуваних меристематичних клітин пагонів.

Таким чином, дослідження показали, що зовнішні клітинні оболонки клітин туніки стебел є досить чутливими структурами клітин до зміни гравітаційного навантаження (Недуха и др., 1991, а; 1992).

Деякі автори вважають, що за умов мікрогравітації відбуваються зміни натягу оболонки в клітинах кореневої меристеми проростків *Zea mays* та *Crepis capillaries*, що росли

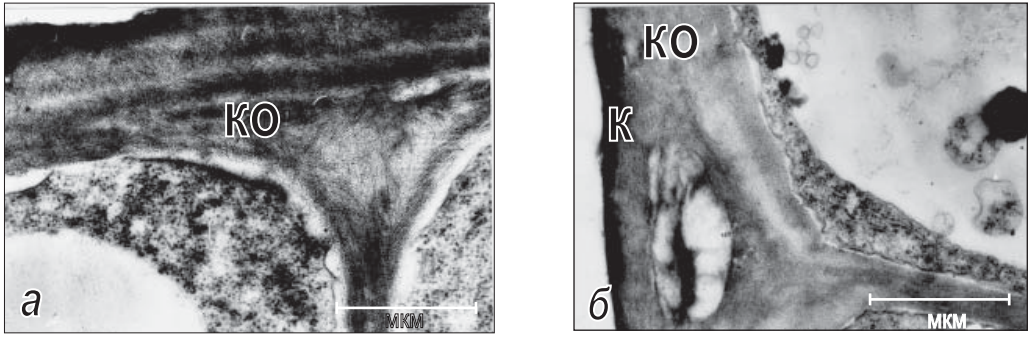


Рис. 2.7.1.2. Фрагменти клітин адаксіальної поверхні епідермісу сім'ядолей проростків бальзаміну, які росли в наземному контролі (а) та космічному польоті (б). Позначення: К – кутикула, КО – клітинна оболонка.

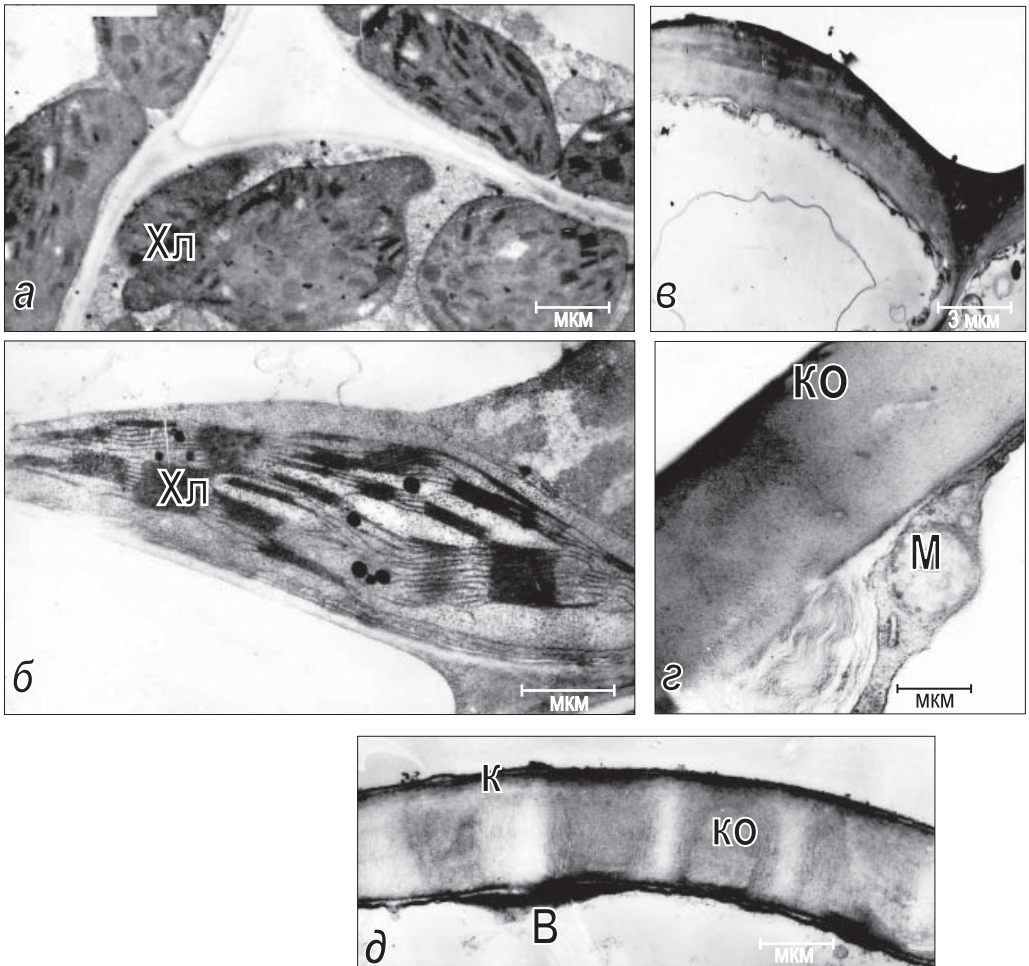


Рис. 2.7.1.3. Фрагменти клітин мезофілу (а, б) та адаксіального епідермісу листових пластинок пшениці: а, в, г – наземний контроль; б, д – космічний політ. Позначення: В – вакуоль, К – кутикула, КО – клітинна оболонка, М – мітохондрія, Хл – хлоропласт.

18,5 діб на біосупутнику «Космос-936» (Таирбеков и др., 1979). Ці дослідники припускали, що саме зміни в натязі оболонки призводять до округлення клітин меристеми. Подібну округлість клітин виявлено і у протонемі моху фунарія вологомірна, яку вирощували 96 діб на орбіті (Сытник и др., 1984).

Вторинні оболонки. Епідермальні та паренхімні клітини

Відомо, що вторинні оболонки формуються під час диференціювання тканин. Зміни в складі полісахаридів та ультраструктурі оболонок відбуваються під час росту клітин та їх диференціювання. Такі оболонки, як відомо, характеризуються зупинкою синтезу пектинів, збільшенням синтезу геміцелюлоз та кристалічної целюлози, а також синтезом лігніну, воску та інших складових (Bolwell, 1988). Згідно з даними ранніх робіт (Раздорский, 1955), міцність вторинних оболонок листків дуже стійка до дії гравітації Землі. Межа обмеження еластичності вторинних оболонок для колєнхіми та епідермісу становить 1,78 кг/мм² площі тканини, а для мезофілу – 0,42-0,47 кг/мм², відповідно. В. Раздорський відмітив значне потовщення оболонок стебел та зміни в еластичності оболонок після того, як до стебла прив'язували додаткову вагу протягом шести діб. Зміни відбувалися, і це свідчило про стійкість стебел до дії гравітації. Тому за умов мікрогравітації клітинні оболонки повинні змінювати свою механічну міцність та гнучкість у залежності від тканини рослини. Доказом цього є роботи японських дослідників, які показали підвищення в'язкості та еластичності клітинних оболонок коренів проростків рису *Oryza sativa*, що росли на космічному кораблі Шатл (STS 95) протягом 68,5; 91,5 та 136 годин (Hoson_et al., 2003).

Структурний аналіз. Методом трансмісійної електронної мікроскопії показано, що 13-ти добова дія мікрогравітації провокувала серію змін у проростках *Impatiens balsamina*, які вирощувалися в умовах етіоляції на біосупутнику «Космос-1887», а також у листках пшениці *Triticum durum*, що вирощувалася на світлі протягом 16-ти добового польоту на орбітальній станції «Мир». Зареєстрували такі зміни (рис. 2.7.1.2 та 2.7.1.3):

- потоншення зовнішніх (периклінальних) епідермальних оболонок сім'ядолей, гіпокотилів та листків;
- зміна перехресно-багатошарової структури периклінальних оболонок на звичайну ламелярну структуру;
- розпушення та утворення пор і «просвітлень» у периклінальних та антиклінальних оболонках епідерми; зниження електронної щільності та зменшення товщини кутикулярного шару в епідермісі в порівнянні з оболонками наземних контрольних рослин (Недуха и др., 1991, а, b; 1992; 1994).

Просвітлення в певних ділянках оболонки, що позбавлені мікрофібрил целюлози, знаходяться безпосередньо як під кутикулою, так і в інших частинах зовнішньої оболонки епідермісу сім'ядолей та гіпокотилів бальзаміна. Крім того, просвітлення виявлені й у частини антиклінальних оболонок епідерми польотних зразів. У той же час клітинні оболонки паренхіми досліджуваних органів бальзаміну та внутрішні оболонки клітин епідерми, які паралельні зовнішнім периклінальним оболонкам, не реагували на дію мікрогравітації. Не виявлено змін і в ультраструктурі цитоплазматичних органел епідермісу та паренхімних клітин кори гіпокотілю, за виключенням зниження вмісту крохмалю в пластидах польотних клітин. Дослідження структури другого та третього шарів кори також не показало явних змін клітинних оболонок при дії мікрогравітації.

Ультраструктура досліджуваних клітин мезофілу листків пшениці, що росли 16 діб у космічному польоті в основному подібна до відповідних клітин контролю. Проте площа поперечних зрізів клітин мезофілу в дослідних рослин була меншою (146 ± 17 мкм²), ніж у контролі (263 ± 122 мкм²), знизилась й популяційна щільність хлоропластів, змінилась і їхня структура: збільшилась кількість тилакоїдів у гранах (рис. 2.7.1.3, б) та знизився вміст крохмалю (Недуха и др., 1991, б; Недуха и др., 1996; Nedukha, 1995, a, b). Подібне зниження розмірів клітин виявлено і у листках *Epidendrum radicans*, що тривалий час ріс в умовах реального космічного польоту (Cherevchenko et al., 1998).

Відомо, що перехресна (ялинкоподібна чи гелікоїдна) структура є характерною ознакою вторинних клітинних оболонок (Neville, Levy, 1984; Roland, Vian, 1979) та оболонок міжвузлів під час їхнього росту (Levy, 1991). Проте гелікоїдну структуру не спостерігають у клітинах, які швидко ростуть (Morrison et al., 1993). З іншого боку, враховуючи, що зовнішні оболонки органів рослини відіграють суттєву роль у рості органу (Kutschera, 1992), а їхнє розпушення пов'язано з активністю фітогормонів (Bret-Harte, Talbot, 1993), ми можемо допустити, що під дією мікрогравітації зміни в структурі оболонок епідерми сім'ядолей проростків бальзаміну були наслідком змін швидкості ростових процесів надземних органів в умовах реальної мікрогравітації.

Виявлені також зміни й у структурі воскового нальоту на периклінальних оболонках епідерми листків 16-ти добових проростків пшениці, що росли в космічному польоті. Методом скануючої електронної мікроскопії показано, що щільність воскових соскоподібних утворень на поверхні епідермісу листків пшениці була на порядок меншою, ніж у контролі (у контролі щільність воску становила $22,4 \pm 3,1$ сосочків/мкм² площі, при дії мікрогравітації – $2,8 \pm 0,3$ сосочків/мкм² площі), розмір воскових сосочків або горбиків був удвічі меншим, ніж у контролі (Nedukha, Mashinskiy, 1992; Недуха и др., 1994).

Таким чином, космічні дослідження показали, що структура периклінальних та антиклінальних оболонок клітин адаксіального епідермісу сім'ядолей, епідерми гіпокотилів проростків бальзаміну, а також епідерми листків пшениці є досить лабільною при зміні гравітаційного навантаження. Базуючись на даних, що мультіламельярна оболонка є характерною для рослинних клітин, що ростуть (Roland, Vian, 1979), ми припустили, що за умов мікро-

гравітації відбувається прискорення росту сім'ядольних листків та гіпокотилів проростків бальзаміну.

Відомо, що епідермальні оболонки беруть участь у кутикулярній транспірації (Мирославов, 1974; Kollatukudy, 1996) та в рості органів (Kutchera, 1992; Kutchera, Briggs, 1987), швидкість яких залежить, як від товщини кутикули, її структури, складу ліпідів, так і від товщини епікутикулярного воску (Мирославов, 1974; Rentschler 1971; Haass, Schoherr 1979; Svenningson 1988). При різноманітних стресах, а саме при водному дефіциті або ж засоленні, швидкість кутикулярної транспірації знижується (до $9,0 \cdot 10^{-2}$ моль/сек.⁻¹) або зовсім зупиняється, що супроводжується потовщенням воскового нальоту та шару кутикули (Кумахова, 1987; Kollatukudy et al., 1981; Kollatukudy, 1996). Крім того, відомо, що розчинні ліпіди є основним бар'єром для транспорту води через кутикулу (Schonherr, 1976). Враховуючи одержані нами дані щодо змін структури епідермальних оболонок рослин за дії мікрогравітації та вищезазначені дані літератури, можна припустити, що за умов мікрогравітації відбувається посилення кутикулярної транспірації рослинами, обумовлене змінами у складі ліпідів епідермальних оболонок.

М. Таирбеков зі співавторами виявили збільшення кутикулярної та продихової транспірації в проростках *Zea mays* (Таирбеков и др., 1988), що росли 7 діб на біосупутнику «Космос-1667». Вони встановили, що вміст води, яку випаровували проростки у космосі, становила 39,9 гр, тоді як у контрольних зразках – 25,1 та 24,8 гр. Кількість води, яку рослини поглинали в космосі, становила 58,6 гр., у наземних контролях – 46,7 та 47,3 гр., відповідно (Таирбеков и др., 1988). Усе це свідчить про зміни водного статусу рослин, які ростуть в умовах мікрогравітації. Хендрикс та Бейкер непрямыми методами також показали зміни водного балансу космічних рослин. Зокрема, вони виявили значне збільшення вмісту глюкози, амілози та сахарози в зрізах пухлин моркви, що зростали 19,5 діб на біосупутнику «Космос-782». Автори вважають, що зміни у вуглеводному обміні були наслідком змін осмотичного потенціалу у відповідь на водний дефіцит за умов мікрогравітації (Khendriks, Baker, 1979).

Вирощування орхідей протягом двох місяців на горизонтальному кліностаті показало вплив імітованої мікрогравітації на клітинні оболонки листків. Встановлено зміну висоти воскового шару, що помітно зменшувався в периклінальних оболонках верхньої та нижньої епідерми, а також в периклінальних оболонках замикаючих клітин продихів в листках *Angraecum distichum*, *Cymbidium hybridum*, *Dendrobium crumenatum*, *Paphiopedium insigne*, *Doritis pulcherrima* та *Vanda sp.* (Cherevchenko et al., 1994; 1995). Такі перебудови в структурі оболонок епідермальних клітин супроводжувалися змінами в складі та вмісті фітогормонів: ІОК була відсутня, а вміст гіберелінів збільшився в порівнянні з відповідними контрольними зразками. Враховуючи дані, отримані Т.М. Черевченко зі співавторами, можна зробити припущення, що зниження воскового нальоту в епідермі листків орхідей, очевидно, є наслідком змін водного та ліпідного балансу в клітинах листків.

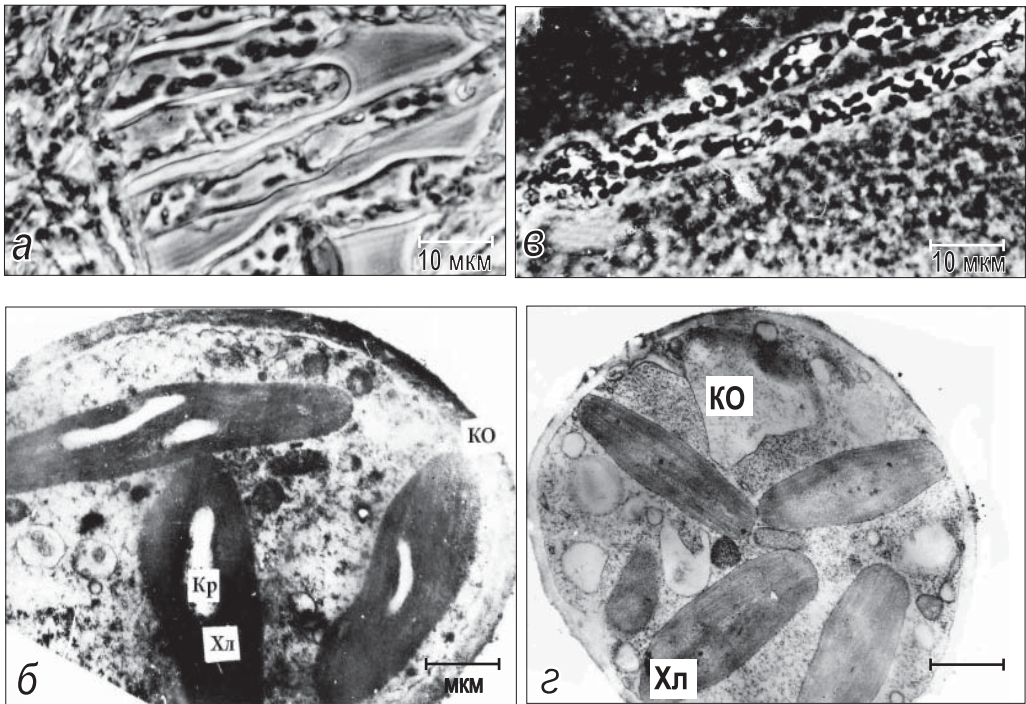


Рис. 2.7.1.4. Загальний вигляд клітин протонеми моху фунарія вологомірна (а, в). Поперечні зрізи клітин протонеми (б, г): **а, б** – контроль; **в, г** – космічний політ. Позначення: КО – клітинна оболонка, Кр – крохмаль, Хл – хлоропласт.

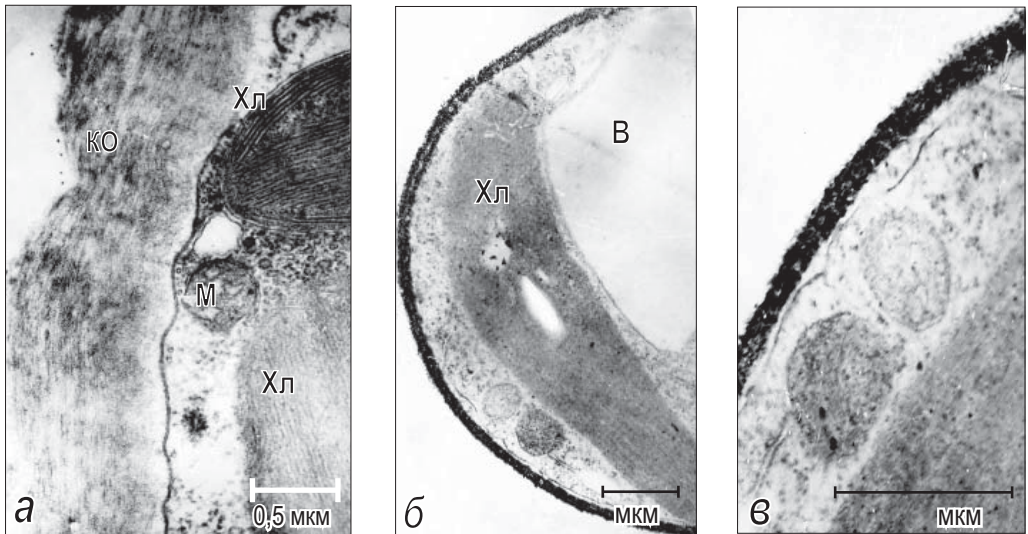


Рис. 2.7.1.5. Фрагменти клітин протонеми моху фунарія вологомірна: **а** – контроль; **б, в** – космічний політ. Позначення: КО – клітинна оболонка, М – мітохондрія, Хл – хлоропласт.

Ми бачимо, що клітинні оболонки та пластиди першими реагували на мікрогравітацію. Як відомо, при різноманітних екстремальних впливах змінюються структура й склад клітинної оболонки, що може привести до порушення її функціонування як опорної, транспортної, накопичуючої й секреторної структури (Тарчевський, Марченко, 1985), а також до змін цитоплазматичних органел. Відомо, що одна з головних функцій зовнішніх оболонок епідермальних клітин – участь у кутикулярній транспірації, інтенсивність якої залежить від товщини й складу кутикули, щільності та розмірів воскового нальоту. Враховуючи це, та одержані нами результати космічних експериментів про зниження вмісту та щільності воскових нальотів, зниження товщини кутикулярного шару та розрихлення мікрофібрил целюлози, можна зробити припущення, що в умовах мікрогравітації відбувається не тільки зниження механічної міцності рослинних органів, але й посилення кутикулярної транспірації незалежно від виду. Очевидно, що такі події можуть відбуватися за рахунок відсутності гравітаційних сил Землі, які не потрібно долати ксилемному транспорту води.

Фотосинтезуючі клітини протонеми моху фунарія вологомірна (*Funaria hygrometrica*). Дослідження тривалої дії (96 діб) реального космічного польоту на клітини протонеми моху *Funaria hygrometrica*, що виростає із спор на орбіті, показало суттєвий вплив мікрогравітації на структуру клітинних оболонок, цитоплазматичних органел та форму клітин (рис. 2.7.1.4). Частина клітин протонеми в космічному польоті округлялася і мала грушеподібну форму. Виявлені зміни клітинних оболонок були наступними: оболонки були втричі (і більше) тоншими (рис. 2.7.1.4, з), ніж у контролі, характеризувались підвищеною електронною щільністю (рис. 2.7.1.5) або ж наявністю електроннопрозорих зон лізису; мікрофібрили в інших частинах оболонки були сильно розпушені в порівнянні із оболонками контрольних зразків протонеми моху (Сытник и др., 1980; 1984; Kordyum et al., 1981).

Зміни структури оболонок супроводжувалися деструкцією хлоропластів, збільшенням кількості та розміру пероксисом. Усе це свідчить про прискорення клітинного старіння в умовах тривалої дії мікрогравітації (Nedukha, 1984; Недуха, 1986). Зниження товщини клітинних оболонок може свідчити про інгібування синтезу полісахаридів оболонок, інтенсивний їх лізис, або ж про те, що обидва ці процеси мали місце в клітинах за умов космічного польоту.

Клітинні оболонки провідних пучків

Дослідження клітинних оболонок провідних пучків у надземних органах рослин має суттєве значення, так, як ці клітини відповідають за водний транспорт від коренів до листків. У поодиноких працях описана структура провідних пучків перших листків проростків пшениці *Triticum durum*, що зростали 16 діб на орбітальній станції «Мир» (Недуха и др., 1991, б). Листки містили два-три трахеальних провідних пучки, три-чотири ситовидних елементи, сегменти ситовидних трубок та клітини, що їх супроводжують. У трахеаль-

них елементах цитоплазма була відсутньою. Трахеальні елементи містили лише клітинні оболонки. В оболонці було видно напівобмежені пори. Вторинні оболонки трахеальних елементів мали електронно-щільну структуру, в якій розрізнялися мікрофібрили целюлози. Оболонка мала товщину біля 0,8 мкм. Паренхімні клітини провідного пучка характеризувалися наявністю потовщень у протуберанцах із плазмодесмами. Клітини мали велику центральну вакуоль, гранулярний ЕР, невеликі амілопласти, в мітохондріях були добре розвинені кристи. Структура ситовидних трубок була типовою для цього типу клітин: оболонка була товстою ($\approx 0,49$ мкм). Вторинні потовщення оболонки містили електронно-прозору структуру (калозу), мікрофібрили целюлози в таких оболонках не виявлялися. Паренхімні клітини провідного пучка судин демонстрували добре розвинутий ЕР та структури апарату Гольджі. Вміст плазмодесм збільшився, і в потоншених оболонках спостерігали розпушення мікрофібрил (Nedukha, 1995, a; в).

Формування калози у вторинних оболонках трахеїд під дією мікрогравітації – цікавий феномен, що вказує на швидкість диференціації трахеїд та/чи на зміни у водному транспорті, або ж на зміни кальцієвого балансу в клітинах (Kauss, 1986). Як відомо, набухла калоза регулює транспорт води через оболонки та клітини (по апопласту та симпласту) (Курсанов, 1976).

Відомо, що водний потік через клітини залежить від наявності аквапоринів у плазмалемі та тонопласті (Chrispeels, Mauer, 1994). Ми не виключаємо можливості змін транспортних функцій аквапоринів (включаючи їхнє закриття чи відкриття, прискорення синтезу чи інгібування) як у плазмалемі, так і тонопласті в умовах мікрогравітації. Очевидно, що транспорт асимілятів через флоему знижується при дії мікрогравітації, тому що на орбіті відсутня гравітаційна сила, яка на Землі допомагає руху асимілятів вздовж вектора гравітації (від листків до коренів).

Карголь (Kargol, 1994) представила гіпотезу гравіосмотичного феномену, відповідно до якої в рослинах існує конвекція гравіосмосу та гравідифузії, тоді як гравіосмотичний транспорт у рослинах підсилюється дією гравітації Землі. Цей феномен залучає особливу здатність мембранних систем піднімати воду на певну висоту, тобто використання насоса, що качає воду проти сили гравітації Землі. Карголь вважає, що гравіосмотичний механізм може функціонувати на ранніх стадіях розвитку судин ксилеми, можливо, що він може бути пов'язаний із тиском води в кореневій системі та транспірацією (Kargol, 1994).

Біохімічні дослідження

Результати космічних експериментів. Умови реального космічного польоту впливають на синтез полісахаридів клітинних оболонок. Встановлено, що в умовах мікрогравітації (на орбітальній станції «Салют-4») після 24 діб вирощування проростків гороху (сорт Піонер) вміст целюлози у листках та стеблах був меншим, ніж у відповідних контрольних рослинах. Вміст целюлози в контролі становив $113,9 \text{ мкг}/10^{-3} \text{ г}$ сухої маси, в польотних зразках – $52,1 \text{ мкг}/10^{-3} \text{ г}$ сухої, відповідно. Крім цього, дослідники відмітили незначне зниження вмісту геміцелюлоз у польотних зразках (Лауринавичус и др., 1984).

Подібну закономірність виявили і японські дослідники, що вивчали вплив мікрогравітації на проростки *Arabidopsis thaliana* (екотип Колумбія) та проростки мутанту по гену (*etr-1*), стійкого до дії етилену (Hoson et al., 2002; Soga et al., 2002). Проростки вирощували на космічному кораблі Шатл (STS 95) протягом 68,5; 91,5 та 136 годин. Встановлені зміни в рості гіпокотилів, зокрема виявлено прискорення їхнього росту, що супроводжувалось зниженням вмісту полісахаридів оболонки на одиницю довжини гіпокотилу, а саме зниженням маси геміцелюлози – ксилоглюканів у фракції геміцелюлози II. Показано, що активність ферментів, що беруть участь у розщепленні ксилоглюканів збільшилась за умов мікрогравітації, тобто відбувалася модифікація метаболізму ксилоглюканів, що сприяло прискоренню росту гіпокотилу в умовах космічного польоту.

Дослідження, проведені на коренях семидобових проростків *Zea mays*, показали, що умови мікрогравітації (на біосупутниках «Космос-1514» та «Космос-1667») спричиняли суттєві зміни у вмісті основного полісахариду – целюлози. Польотні корені проростків містили 31,6 % целюлози, тоді як корені контрольних проростків – 26,8 та 17,4 %, відповідно (Таирбеков и др., 1988). Авторами відмічено, що польотні колеоптилі були довгими, корені коротшими, а вага клітинних оболонок – більшою, ніж у контролі. Можливо, що такі зміни були пов'язані з порушеннями швидкості ростових процесів у проростків кукурудзи.

Такі висновки узгоджуються з результатами, отриманими Заботіною зі співавторами (Заботина и др., 1985; Заботина, 1987), які виявили незначне збільшення (на 2,9 %) вмісту лігніну у коренях кукурудзи після 7 діб перебування проростків на орбіті.

Цікаві дослідження по дослідженню синтезу целюлози, проведені Брауном зі співавторами (Brown et al., 1992) на модельній системі *Acetobacter xylinum*. Дослідники встановили вплив короткочасної мікрогравітації на синтез целюлози під час п'яти параболічних польотів на КС-135 (аerocraft). Виявлено, що синтез целюлози відбувається на всіх фазах польоту аеросудна. Контрольні та польотні організми мали звичайні компактні фібрили мікробіальної целюлози. Умови польоту були наступними: 20 сек – мікрогравітація, 20 сек – фаза 2 g, та комбінація цих фаз. Автори припускають, що комбінована дія мікрогравітації та гіпергравітації також можуть впливати на формування целюлозних фібрил (Brown et al., 1992).

Особливої уваги заслуговують роботи по вивченню вмісту лігніну та ферментів (феніламонійліази та пероксидази), що беруть участь у полімеризації монолігнінів, у в проростках сосни, квасолі маш та вівса після 194 годин на третьому космічному транспортному кораблі (Third Space Transport) (Cowles et al., 1984). Дослідники виявили зменшення вмісту лігніну (на 1–4 %) у проростках сосни, а також значне зниження лігніну на зрізах клітин (на 15–24 %) при порівнянні з відповідними контролями, що зростали на Землі при 1 g (Cowles et al., 1984).

Відповідно до теоретичних положень, описаних в літературі (Siegel et al., 1972; Chen et al., 1980) біосинтез лігніну в земних умовах регулюється дією гравітаційних сил. Пізніше ця гіпотеза була перевірена Голібером на водних рослинах *Hippuris vulgaris* (Goliber, 1986).

Зміни вмісту лігніну під дією мікрогравітації не є специфічними, оскільки подібне зниження лігніну та зменшення активності фенілаланінамонійліази, а також і пероксидази відмічено при порушенні водного балансу (підвищенні вологості) у рослин у звичайних польових та лабораторних умовах (Kevers, Gaspar, 1985).

Лаурінавічус зі співавторами виявив, що після 24 діб росту рослин гороху на орбітальній станції «Салют 4» вміст геміцелюлоз у фотосинтезуючих органах підвищився: якщо в контролі він становив 50,8 мкг/мг сухої маси, в польотних зразках – 54,3 мкг/мг сухої маси (Лаурінавічус і др., 1984). Крім цього дослідники показали, що моносахаридний склад геміцелюлоз та пектинів змінюється під дією мікрогравітації (Заботина і др., 1985; Гродзовская, 1986; Таирбеков і др., 1988). Ними встановлено зниження уронових кислот у пектиновій фракції коренів кукурудзи на 3,5 %, у тій же фракції із колеоптилів – на 9,5 %, тоді як вміст рамнози збільшувався на 2 % в коренях та зменшувався на 3-4 % у колеоптилях. Крім цього, виявлено, що вміст галактози в пектиновій фракції знижувався на 3,5 % у польотних коренях рослин та збільшувався на 10-12 % у відповідній фракції з колеоптилів кукурудзи, відповідно. У фракції геміцелюлоз також відбулися зміни: вміст глюкози та галактози достовірно збільшився у коренях та колеоптилях кукурудзи (Гродзовская, 1986; Таирбеков і др., 1988). Ці результати свідчать про важливу роль уронових кислот та рамнози в змінах метаболізму клітинних оболонок у відповідь на зміну сили гравітації.

Відомо, що регуляція метаболізму рослин на Землі знаходиться під постійною дією гравітації, що обумовлює наявність гравітаційного градієнта щодо осмотичного тиску, величини рН, вмісту асимілятів, концентрації іонів, транспорту фітогормонів та ферментативної активності (Молотковский, 1961; Полевой, 1986). Такі полярні градієнти направляють всі речовини вздовж вектора гравітації або ж в протилежному напрямку. Ми припускаємо, що за дії мікрогравітації (у реальному космічному польоті) градієнти такої полярності можуть змінювати напрямок та/або ж і величини таких полярних градієнтів. Ці зміни можуть призводити до порушення структури та метаболізму в органах, тканинах та клітинах. Очевидно, що зміни полярності під дією мікрогравітації можуть призвести й до збільшення швидкості ксилемного транспорту та зниження швидкості флоемного транспорту асимілятів, а також змін швидкості росту та старіння клітин, оскільки в реальному космічному польоті величина гравітаційних сил зведена практично до «нуля». Можливо, що порушення водного та іонного транспорту по ксилемі та апопласту клітин може призводити до збільшення транспірації за рахунок зниження кутикулярного шару (збільшення кутикулярної транспірації) у клітинних оболонках, змін функціонування продихів, а також структури та функціональних навантажень на клітинні оболонки. Такі зміни можуть відбуватися одночасно зі змінами вмісту $[Ca^{2+}]$.

Деякі автори вважають, що крім іонів кальцію, учасниками передачі зовнішніх сигналів до протопласту клітини можуть бути, як фітогормони (ІОК, цитокініни, АБК та ін.), ліпофільні властивості яких дозволяють зв'язуватись гормонам з гідрофобними компонентами мембрани та специфічними рецепторами (Guern 1987; Owen, Napier, 1988), так і система

активації фосфорилування білків (Exton, 1987; Білявська, 2001). У клітин тварин у відповідь на позаклітинний сигнал-стимул спрацьовують дві системи: 1) пряма активація лігандом рецептора аденілатциклази, що веде до підвищення рівня cAMP та активації cAMP-залежних протеїнкіназ; 2) активація лігандом рецепторів, які з'єднані з кальцієвими каналами, що призводить до підвищення внутрішньоклітинної концентрації кальцію, його зв'язування з кальмодуліном та активації кальцій-залежних протеїнкіназ (Exton, 1987). Враховуючи вищевказані дані для тваринних клітин та результати експериментальних робіт по виявленню інгібування Ca^{2+} -АТФаз на плазмалемі та їхньої активації на ендомембранах клітин рослин, що зростали за умов мікрогравітації, можна зробити припущення, що мікрогравітація впливає на рецептори, які поєднані з кальцієвими каналами плазмалеми.

Для з'ясування сприйняття мікрогравітаційного сигналу та його передачі в клітину, на наш погляд, певної уваги заслуговує модель, запропонована П. Рейзертом (Reisert, 1981), за якою передача зовнішнього сигналу в рослинну клітину може проходити трьома шляхами:

- 1) сигнальний стимул (або молекула) проходить через клітинну оболонку, не змінюючи її структури, і входить у протопласт клітини;
- 2) сигнальна молекула зв'язується зі специфічним рецептором оболонки й може викликати його зміну, а потім досягати цитоплазматичної мембрани. Таким рецептором може бути молекула глікопротеїна або ж вуглеводу матриксу, яка здатна викликати набрякання оболонки або її деградацію, утворюючи «колію» транспорту сигналу;
- 3) сигнал може із зовнішнього боку клітинної оболонки відкривати у ній пори або ж розривати зв'язки і здійснювати перегруповування молекул, відкриваючи вхід до оболонки. Такі пори стають доступними для іонів і невеликих молекул.

П. Рейзерт вважає, що посилення первинного сигналу може відбуватися шляхом взаємодії комплексу первинний сигнал – білок з наступною білковою молекулою і так далі поки не утвориться «каскад», що досягає цитоплазматичної мембрани. Після цього починається трансмембранний зв'язок із зовнішнім стимулом. Очевидно, судячи з результатів експериментів по вивченню дії мікрогравітації на клітину, в оболонці рослинної клітини можуть відбуватися зміни за другим і третім типом сигналізації за Рейзертом. Але остаточне вирішення цього питання відбудеться тільки після розкриття фізиками природи гравітаційних хвиль і гравітону.

Ймовірно, що мікрогравітони впливають на механочутливі кальцієві канали плазмалеми, які починають відкриватися, у результаті чого підвищується рівень Ca^{2+} в кортикальному шарі цитоплазми та апопласті. Питання про те, які типи кальцієвих каналів є рецепторно-залежними, ще необхідно дослідити. Очевидно, що функціонування механочутливих кальцієвих каналів пов'язано із градієнтом кальцію на полюсах видовжених клітин (що ростуть) в умовах постійної дії земної гравітації.

Таким чином, у цьому розділі представлені роботи по дослідженню структурно-функціонального стану клітинних оболонок рослин, що росли за умов реального космічного польоту (дія мікрогравітації). Дія мікрогравітації викликає суттєві зміни в структурі та складі клітинних оболонок рослинних організмів, проявляючи свою лабільність, що можна представити схематично (рис. 2.7.1.6). Встановлено, що гравітаційно-чутливі ланки метаболізму клітинних оболонок носять загальний характер і, мабуть, властиві більшості вищих рослин. Аналіз експериментальних праць, проведених цитологічними та цитохімічними методами, дозволив наблизитись до розуміння процесів, які відбуваються у клітинній оболонці, встановити як спільні риси, так і певні відмінності в структурі клітинних оболонок залежно від типу і стану клітин. Численними роботами показано, що зміни в структурі клітинних оболонок, складі полісахаридів, активації гідролаз зв'язані з певними типами клітин та тканин, тривалістю дію мікрогравітації: чим більша тривалість мікрогравітації на рослину, тим лабільніші ці показники.

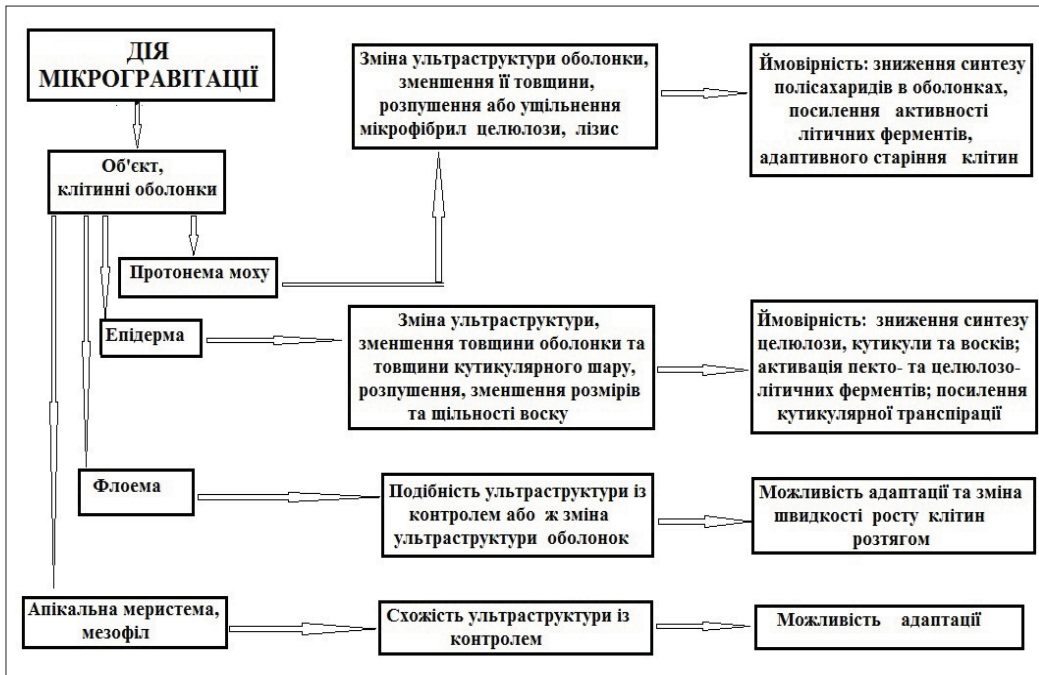


Рис. 2.7.1.6. Схема основних біологічних ефектів та можливих механізмів впливу тривалої дії мікрогравітації на клітинні оболонки вищих рослин

2.7.2. Кліноштатування

Встановлено, що частина біологічних ефектів мікрогравітації на рослинні клітинні оболонки подібні до таких, що виникають при вирощуванні рослини на горизонтальних кліноштатах (Сытник и др., 1984). При горизонтальному кліноштатуванні (зі швидкістю обертання 2 об/хв.) на рослину, що росте, діє відцентрова сила, величина якої менша за величину, що сприймається коренем (10^{-4} – 10^{-3} g) та стеблом (10^{-5} g) (Меркис, 1973), тобто рослина не здатна сприймати гравітаційне подразнення при вирощуванні її на кліноштані, що обертається зі швидкістю 2 об/хв.

Кліноштат є прилад для обертання рослин під прямим кутом по відношенню до вертикальної складової гравітаційних сил Землі. Історія створення і принципи їх роботи висвітлено у монографії А. Меркиса (1973). Вісь кліноштата встановлюється таким чином, щоб вектор гравітації був направлений поперечно поздовжньої осі рослини. На рослину, яка росте на кліноштані, діє кілька сил: відцентрова, компоненти сил тяжіння або ж їх комбінація. На горизонтально розміщену рослину горизонтальна складова гравітації не діє, тому що вона дорівнює нулю, а вертикальна сила за один оберт буде змінюватись між +1 і -1g відповідно синусоїдальній функції, середнє значення якої для кожного інтегрального числа обертів повинно дорівнювати нулю, це так звана «нуліфікація вектора сили тяжіння» (Brown et al., 1976, a; 1976, b). Не зважаючи на це, усунути силу тяжіння на Землі (на тривалий час) поки що практично неможливо. Використання аерокрафтів (див підрозділ – дія гіпергравітації) лише не так давно дало можливість створювати мікрогравітацію протягом кількох секунд. Найважливішим критерієм оцінки можливості моделювання за допомогою кліноштата є порівняння результатів експериментів, одержаних в умовах реального космічного польоту з такими на кліноштатах (Сытник и др., 1984).

Встановлено, що більшість рослин добре переносять короткочасне кліноштатування, хоча у частини рослин при збільшенні тривалості дії скаляризації вектора гравітації (до 33 діб) порушувалися морфогенез і ріст, внаслідок чого вони жовтіли та гинули (Меркис, 1973). Відзначено також і порушення орієнтації рослин (Платонова и др., 1979). Більшість досліджень, проведених із використанням кліноштатів, присвячена вивченню структурно-функціональній організації гравірецепторних клітин колумели та клітин меристеми коренів, клітин у культурі *in vitro* (див монографії: Меркис, 1973; Сытник и др., 1984; Кордюм и др., 1994). Показано, що нетривале кліноштатування не викликає помітних морфологічних змін органів, проте на клітинному рівні такі зміни чітко виражені. У статочитів колумели коренів порушується полярність амілопластів, збільшується об'єм літичного компартменту клітин, відбувається явний лізис оболонок (Белканія, 1982; Белявская, 1983; Тарасенко, 1983). Дослідники вважають, що статоліти проходять прискорену програму диференціювання й старіння.

Ефект горизонтального кліноштатування на структуру клітинних оболонок вивчено на клітинах протонеми моху фунарія вологомірна. Вирощування протонеми *Funaria*

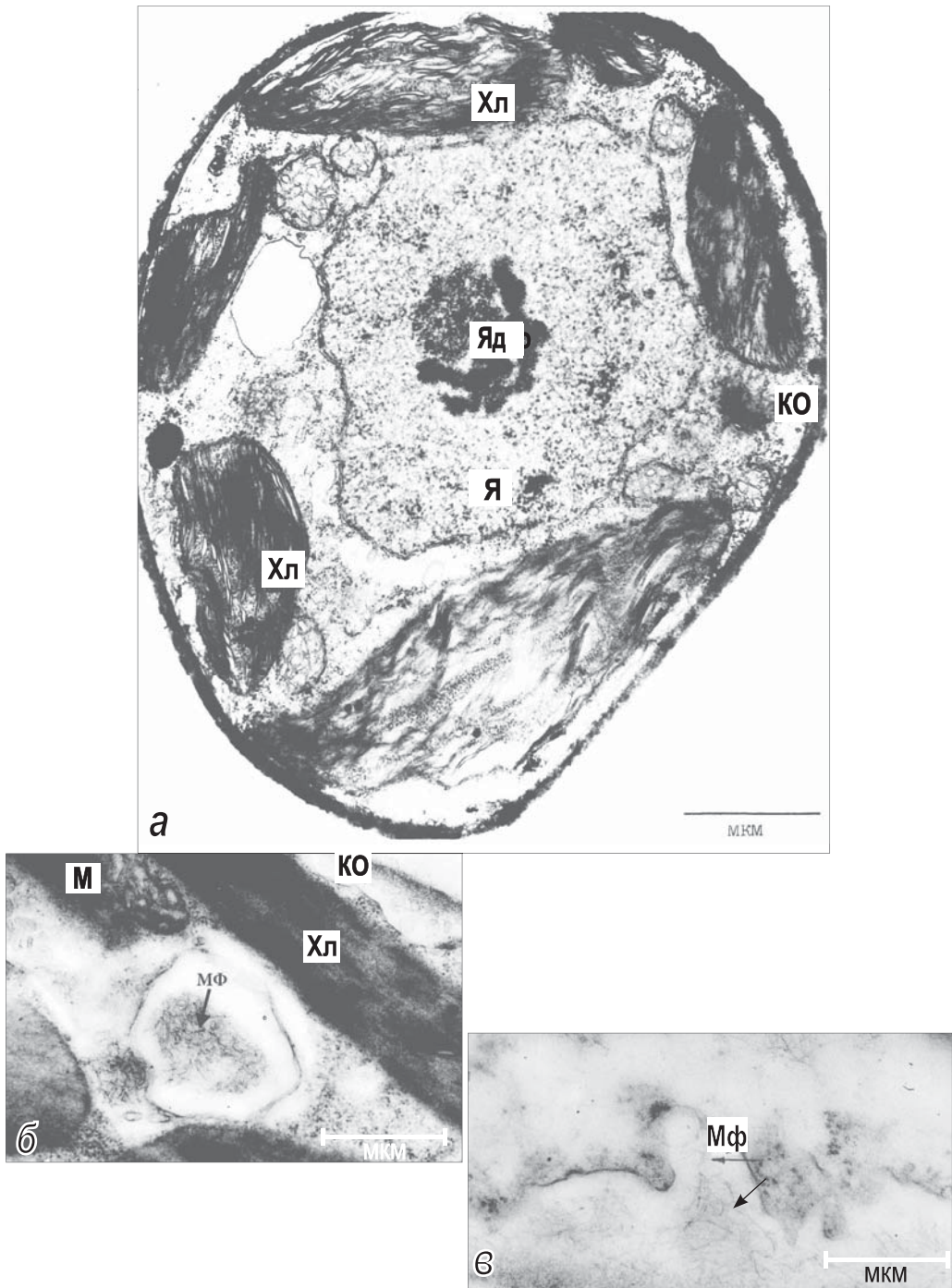


Рис. 2.7.2.1. Фрагменти клітин протонеми моху фунарія вологомірна з лізуючими клітинними оболонками. Вплив 30-ти добового горизонтального кліностакування (Недуха, 1986). Позначення: М – мітохондрія, Мф – мікрофібрили целюлози, КО – клітинна оболонка, Хл – хлоропласт, Я – ядро, Яд – ядерце.

hygrometrica протягом 30 діб на горизонтальному кліностаті (2 об/хв.) проявляло різну дію на клітинні оболонки (Nedukha, 1984; Недуха, 1986). Описано три типи реакцій клітин, що росли на кліностаті. У першому типі відмічена відсутність відмінностей у структурі клітинних оболонок та цитоплазматичних органелах. Другий тип включав зміни, що відбулися в структурі оболонок, які стали у два-три рази тоншими; у третьому типі клітинні оболонки були тонші у два-шість разів у порівнянні з контрольними зразками, а цитоплазматичні органели мали ознаки деструкції (Недуха, 1986) (рис. 2.7.2.1). У клітинах протонеми моху другого типу виявили наступні зміни в клітинних оболонках, а саме, розпушення мікрофібрил целюлози та картини лізису вмісту оболонок (рис. 2.7.2.1, б, в).

У вакуолях було видно залишки коротких мікрофібрил целюлози. Відмічено зниження розмірів клітин та зміни в ультраструктурі органел, починаючи із 10-ої доби кліностатування: у хлоропластах тилакоїди гран та строми були набряклими. На 30-ту добу – виявлено лізис клітинних оболонок, значне розбухання тилакоїдів хлоропластів, зниження вмісту первинного крохмалю, збільшення популяції пероксисом (Недуха, 1986). Останній феномен, очевидно, свідчить про інтенсифікацію процесів фотодихання в клітинах, що вирости на горизонтальному кліностаті (Nedukha, 1984). Виявлені зміни ультраструктури клітин дали змогу зробити висновок, що в першу чергу мікрогравітація впливає на ультраструктуру органел, які беруть участь у вуглеводному обміні. Менші розміри клітин протонеми моху свідчать про інгібування росту клітин розтягом, що вказує на зміни тургору та пулу вуглеводів, необхідних для побудови клітинних оболонок. Відомо, що для синтезу полісахаридів оболонки критичною є необхідна наявність моноцукрів (гексоз, пентоз, уронових кислот), які утворюються в процесі фотосинтезу (Тарчевский Марченко, 1997).

Таким чином, встановлено, що структурні зміни на клітинному та субклітинном рівнях, які виникають в умовах реального космічного польоту у вегетативних органах частково схожі з перебудовами клітин при моделюванні ефектів мікрогравітації на кліностатах.

Біохімічні дослідження. Результати експериментів на горизонтальних кліностатах. Скаляризація вектора гравітації, що забезпечується кліностатуванням, також викликає зміни в клітинних оболонках рослин. Дані по вивченню впливу кліностатування на клітинні оболонки мають неоднозначний характер. У ранніх роботі Зігеля показано, що горизонтальне кліностатування протягом трьох неділь провокувало зниження вмісту целюлози, пектину та лігніну, а також збільшення геміцелюлоз в проростках *Helianthus annuus* (Siegel et al., 1972; Siegel 1979).

Протилежні дані отримані російськими дослідниками. Вони встановили, що маса клітинних оболонок листків, стебел та коренів у 7-ми денних проростків *Zea mays* збільшувалася під дією кліностатування в порівнянні з контролем, вміст целюлози та лігніну також збільшувалися в оболонках досліджуваних органів кукурудзи (Гродзовская и др., 1985; Заботина, 1987). Заботіна виявила, що в проростків іншого виду однодольних – пшениці, після 24 добового кліностатування, маса клітинних оболонок збільшувалася лише в ко-

ренях, тоді як вміст целюлози у коренях знижувався, а в стеблах він злегка збільшувався (Заботина, 1987).

Використання радіоактивної мітки (^{14}C -глюкози) при дослідженні росту проростків кукурудзи на кліностації показало, що включення міченої глюкози відбувається у фракцію геміцелюлоз та целюлози в листках, стеблах та коренях. Тоді як кліностакування провокувало зниження вмісту уронових кислот у стеблах та коренях, крім того, вміст арабінози та ксилози знижувався, тоді як вміст галактози у фракції геміцелюлоз усіх досліджуваних органів збільшувався (Заботина, 1987). Вивчення вмісту нейтральних цукрів у кліностатованих проростків *Pisum sativum* показало збільшення галактози та рамнози, зменшення – арабінози в коренях та стеблах гороху. Подібні зміни автор виявила як у однодольних, так і дводольних рослин; усе це свідчить про те, що в рослин при кліностатуванні відбувається зниження вмісту ксилану в оболонках (Заботина, 1987).

Тривале кліностакування (до 30 діб) впливало на полісахаридний склад у протонемі моху *Funaria hygrometrica* (Nedukha, 1997). Найбільші відмінності стосувалися вмісту кристалічної целюлози, геміцелюлоз та пектину (табл. 2.7.2.1). Відомо, що ступінь кристалізації мікрофібрил целюлози пов'язаний із посиленою утилізацією уридиндифосфатглюкози та інгібуванням утилізації гуанідифосфатглюкози (Тарчевский, Марченко, 1985). З другого боку, відмічено зниження загального вмісту целюлози в 1,5 раза та збільшення втричі вмісту геміцелюлоз.

ТАБЛИЦЯ 2.7.2.1. **Вміст полісахаридів у клітинах 30-ти добової протонемі моху *Funaria hygrometrica* (Nedukha, 1997)**

| Полісахарид | Вміст полісахаридів (%/гр. сирової маси) в протонемі моху | |
|------------------|---|-----------------|
| | контроль | кліностакування |
| Целюлоза | | |
| кристалічна | 42,48 | 17,29 |
| аморфна | 15,77 | 22,08 |
| Геміцелюлози | 7,18 | 21,60 |
| Пектини | | |
| розчинний пектин | 0,33 | 0,67 |
| протопектин | 1,34 | 0,38 |

На основі результатів експериментальних досліджень та даних літератури ми (Nedukha, 1997) висунули наступні припущення:

- за умов імітованої мікрогравітації (горизонтального кліностакування) цупкість клітинних оболонок значно знижується, проте збільшується їх водоутримуюча здатність за рахунок аморфної целюлози, молекули якої здатні утримувати водні молекули;

- під впливом частково імітованої мікрогравітації синтез уридиндифосфатглюкози (UDPG) знижується;
- транспорт UDPG змінюється, основна частина UDPG направляється до апарату Гольджі для синтезу попередників (складових) полісахаридів матрикса, включаючи синтез геміцелюлоз, для яких донором саме є UDPG.

Останнє припущення узгоджується з даними Гродзовської (1986) по включенню ^{14}C -глюкози в оболонки проростків пшениці, що зростали 14 діб на кліноставі. Автор виявила збільшення швидкості включення радіоактивної мітки в геміцелюлози, тоді як включення мітки у фракцію целюлоз майже не змінювалося.

Збільшення вмісту геміцелюлоз та аморфної целюлози у протонемі моху *Funaria hygrometrica* за умов тривалого кліноставування можна пояснити можливими змінами водного балансу клітин при кліноставуванні (Nedukha, 1997). Відомо, що саме геміцелюлози та аморфна целюлоза здатні утримувати воду в апопласті (Гончарова, Балтига, 1971; Czihak et al., 1999; Nilsson Martin, 2006). Зокрема, геміцелюлози (ксилани) характеризуються досить великою гідрофільною поверхнею в порівнянні з іншими полісахаридами оболонок (Ress, Stenberg, 1988).

Дослідження впливу 10-ти добового кліноставування на вміст калози в оболонках протонемі моху *Funaria hygrometrica* показало, що за умов скаляризації вектора гравітації вміст калози в поперечних клітинних оболонках, що з'єднують клітини в одношарову довгу «нитку» протонемі, збільшився втричі, тоді як у поздовжніх (зовнішніх) оболонках такі зміни були ледь помітними (Недуха, Кордюм, Даневич, 1988). Індуктором такого збільшення вмісту калози можуть бути іони кальцію, що активують β -1-3-глюкансинтетазу, та ауксини (β -ІОК) (Nevins et al., 1977; Kauss, 1985).

Роль ферментів. Перші роботи, присвячені вивченню активності ферментів апопласту за дії мікрогравітації, були опубліковані ще в 70-их роках минулого століття. Бара й Гордон показали, що нетривале (5 діб) кліноставування проростків *Helianthus annuus* злегка знижувало активність целюлази та β -1-3-глюкансинтетази в гіпокотиллях (Bara, Gordon, 1972; Siegel, 1979). Ковлес зі співавторами виявили зниження активності фенілаланінамонійліази (КФ.4.3.1.5, PAL), що бере участь у синтезі лігніну, та зменшення вмісту лігніну в проростках сосни, що росли 194 години в космічному польоті (Cowles et al., 1984). Дослідники показали, що загальна активність PAL у польотних зразках становила $31503,05 \text{ нмоль/год}^{-1}$ (на стебло), тоді як у контрольних зразках – $40495,04 \text{ нмоль/год}^{-1}$.

Голібер, вивчаючи лігніфікацію в підводних та надводних стеблах і листках *Hippurus vulgaris*, що зазнавали різне за величиною гравітаційне навантаження за різних умов, виявив, що активність ферменту фенілаланінамонійліази в органах, занурених у воду, становила $0,083$ та $0,037$ одиниць $\cdot \text{мг білка}^{-1}$ (відповідно у стеблах та листках), тоді як у повітряних органах вона становила $0,64$ та $0,15$ одиниць (мг білка^{-1}) . Крім того, підводні зразки

відрізнялися від надводних різними ізоформами пероксидази (Goliber, 1986), відмінності яких також були виявлені при порівняльному дослідженні рослин, що зростали на кліностахах та у відповідних контролях (Рубин и др., 1979).

Феномени, виявлені на кліностатованих клітинах протонеми моху фунарія вологомірна, а саме, потоншення клітинних оболонок, частковий їх лізис та зниження вмісту кристалічної форми целюлози, супроводжувалися активацією двох ферментів (ендо-1-4- β -глюканази, КФ 3.2.1.4 та екзо-1-4- β -глюканази, КФ 3.2.1.74), активність яких становила 1,54 мікромоль $\text{хв}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$ у контрольних зразках та 7,04 мікромоль $\text{хв}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$ – у кліностатованих зразках, відповідно (Недуха, Трутнева, 1988; Nedukha, 1992). Збільшення активності ферментів целюлозолітичного комплексу може вказувати на посилення гідролізу як внутрішніх зв'язків у целюлозі, так і термінальних зв'язків. До того ж відомо, що активація таких ферментів призводить до зниження кристалічності целюлози та вкорочення молекул аморфної целюлози (Клесов, 1986; Клесов, Сеницын, 1981). Усе це вказує на високу лабільність функціонального стану клітинних оболонок рослин за дії мікрогравітації чи її імітації.

Дослідження активності пектиназ у клітинах протонеми моху *Funaria hygrometrica*, що росла 30 діб на кліностаті (2 об/хв.), показало певні відмінності при порівнянні з відповідним контролем (Недуха, Трутнева, 1988; Nedukha, 1997). Електронноцитохімічне дослідження локалізації пектиназної активності виявило, що продукт цитохімічної реакції, який маркував пектиназу, локалізувався лише в клітинних оболонках. У кліностатованих клітинах виявлена значно вища інтенсивність цитохімічної реакції в порівнянні з контролем та досить висока щільність преципітату в апопласті, преципітат також виявлявся й у периплазматичному просторі між мікрофібрилами целюлози. Паралельно дослідниками було проведено біохімічний аналіз щодо ідентифікації пектиназ у досліджуваних клітинах. Були ідентифіковані дві пектинази: полігалактураназа (КФ 3.2.1.15) та пектинестераза (КФ 3.1.1.11) у контрольних та кліностатованих зразках (Недуха, Трутнева, 1988). Однак, екзополігалактураназа (КФ. 3.2.1.67) не була виявлена в досліджуваних зразках. У протонемі моху, що зростала за умов імітованої мікрогравітації активність полігалактуранази була більша у 50 разів на 20-ту добу росту, та в 1,5 раза – на 30 добу у порівнянні із контролем, тоді як активність пектинестерази збільшувалася в кліностатованих клітинах на 20-ту добу в 10 разів, а на 30-ту добу – у 13 разів у порівнянні з відповідними контрольними зразками (Nedukha, 1997).

Отримані результати вказують, що полігалактураназа та пектинестераза збільшують свою активність за умов імітації мікрогравітації. Відомо, що полігалактураназа гідролізує пектини в умовах зниження рН апопласту, коли має місце наявності вільних карбоксильних груп, за які конкурують як іони кальцію, так і протони (Demarty et al., 1984; Rushing, Huber, 1987). Усе це дає змогу висунути припущення, що іони кальцію, які зв'язані з карбоксильними групами вивільнюються, і, таким чином, кальцій в апопласті із зв'язаного стану переходить у вільний (Nedukha 1989; 1995, b).

Відомо, що Ca^{2+} -АТФаза плазмалеми відіграє ключову роль, як кальцієва помпа. Ця АТФаза контролює концентрацію вільного кальцію в клітині та транспорт кальцію із цитоплазми до оболонки (Roux, Slocum, 1982; Dieter, 1984). Вивчення Ca^{2+} -АТФази цитоплазматичної мембрани є дуже важливим для дослідження кальцієвого балансу в апопласті.

Електронноцитохімічне дослідження локалізації активності Ca^{2+} -АТФази в статоцитах клітин кореня гороху, що ріс 7 діб на горизонтальному кліностаті (2 об/хв.) показало суттєві зміни в цитохімічній реакції (Белявская и др., 1988; Білявська, 2001; Кордюм и др., 1994) у порівнянні з клітинами статоцитів контрольних зразків. У контрольних зразках преципітат продукту реакції був локалізований лише вздовж цитоплазматичної мембрани; тоді як у кліностатованих клітинах продукт реакції був відсутній біля плазмалеми, але він виявлявся в ядерній оболонці, мембранах пластид, ендоплазматичного ретикулума та структур апарату Гольджі. Автори розглядають ці зміни як наслідок змін функціонування Ca^{2+} -помпи ендомембран статоцитів, у результаті чого відбувається збільшення концентрації кальцію в цитоплазмі та зміни кальцієвого балансу в апопласті за дії кліностатування (Белявская и др., 1988).

Електронноцитохімічне дослідження Ca^{2+} -АТФази в клітинах протонеми моху *Funaria hygrometrica*, що зростала на кліностаті, показало аналогічні зміни, як у вищенаведеній праці: відсутність преципітату біля плазмалеми клітин моху та інтенсивна реакція на тонопласті та ендомембранах (Недуха, 1987).

Відомо, що іони кальцію, які є вторинними посередниками в клітинах, відіграють певну роль у прояві геотропізму клітин, у злитті клітин, стабілізації структури оболонки, іонному обміні, в регуляції активності ферментів апопласта (Demarty et al., 1984). У клітинних оболонках, відповідно до моделі, запропонованою Вуйтек та Жиле (Wuytack, Gillet, 1978), іони кальцію фіксуються в апопласті електростатичними зв'язками з карбоксильними групами пектинів. Вивчення кальцієвого балансу у клітинних оболонках рослин, що росли в невагомості чи за умов симульованої мікрогравітації, є важливим для пізнання ролі та дії мікрогравітації на рослинні клітини. Зміни кальцієвого балансу рослин за умов реального космічного польоту показані в кількох роботах (Лауринавичус и др., 1984; Kordyum et al., 1984). Лауринавичус зі співавторами виявили зниження вмісту кальцію в листках та стеблах проростів гороху, що зростали 24 доби на орбітальній станції «Салют-4»: в польотних (космічних) зразках вміст кальцію становив 0,23 % (сухої маси), тоді як у контролі – 1,79 %, відповідно. Ці автори припускають, що зниження вмісту кальцію у польотних зразках пов'язано із порушеннями процесу транспорту іонів. Проте роль кальцію в клітинних оболонках органів рослин за умов мікрогравітації лишається ще недостатньо вивченою.

Протилежні дані були отримані в експериментах із проростками *Pisum sativum* при вирощування рослин на орбітальній станції «Салют» (Белявская и др., 1988; Belyavskaya, 1995). Виявлена наявність численних кальцій-зв'язуючих сайтів у статоцитах коренів гороху. Автори вважають, що це відбувається за рахунок активації механочутливих кальцієвих

каналів плазмалеми під час приземлення космічного корабля (Kordyum et al., 1984; Білявська, 2001). На думку авторів кальцій вивільняється із внутрішньоклітинних кальцієвих депо клітин.

Цитохімічними методами показано суттєві зміни локалізація вільного та слабкозв'язаного кальцію в апопласті клітин протонеми моху *Funaria hygrometrica* при вирощуванні її в умовах тривалої імітованої мікрогравітації (горизонтальне клінонстатування, 2 об/хв.) (Nedukha, 1989). Виявлено, що при клінонстатуванні в апопласті, гіалоплазмі та оргanelах клітин протонеми моху збільшується вміст продуктів цитохімічної реакції на іонізований кальцій. Вміст зв'язаного кальцію в апопласті (при реакції із хлортетрацикліном) також знижується при дії клінонстатування (Nedukha, 1997; Недуха, 1994, б). Крім цього, атомно-абсорбційним аналізом показано, що вміст кальцію в середовищі, в якому вирощувалася протонема моху на клінонстаті, збільшувався зі збільшенням терміну вирощування протонеми: вміст кальцію в культуральному середовищі (при клінонстатуванні) становило 83 мг/мл, тоді як в контролі – 58 мг/мл, відповідно (Недуха, 1994, а; Nedukha, 1997), тобто за умов імітації мікрогравітації іони кальцію виходили із клітин у культуральне середовище. Механізм цього феномену на рівні стимул-відповідь поки лишається відкритим.

Встановлено, що синтез целюлози та калози в первинній оболонці змінюється під дією мікрогравітації та клінонстатування. Зниження вмісту целюлози було неочікуваним феноменом. Можливо, що відбуваються певні зміни в синтезі попередників целюлози, які необхідні для синтезу цього глюкана. Також було встановлено вплив мікрогравітації на вторинні оболонки в залежності від типу тканини. Показано, що найбільш лабільними до впливу мікрогравітації виявилися периклінальні оболонки епідермальних клітин та клітин продихів. Зміни в структурі оболонок та зниження товщини кутикулярного шару і його щільності, а також зменшення розмірів та щільності воскового нальоту, є досить значними. Питання про кутикулярну та продихову транспірацію в умовах мікрогравітації є досить важливим. Формування пор у кутикулі зниження вмісту воску виявлено в епідермі багатьох тканин під дією мікрогравітації. Цей факт указує на те, що прискорена транспірація та порушення водного балансу рослин мають місце при зміні гравітаційного навантаження.

Виявлено, що гравітаційно-чутливими ланками метаболізму клітинних оболонок є процес синтезу полісахаридів (целюлози, геміцелюлоз, пектину, калози та інкрустуючих речовин) кристалізація мікрофібрил целюлози, гідроліз внутрішніх і зовнішніх зв'язків целюлози й пектинових речовин, зв'язування вільних карбоксильних груп пектинів іонами кальцію або ж протонами (рис. 2.7.2.2). Проте, молекулярні механізми таких змін досі не з'ясовані. Досліджено феномен зміни активності деяких ферментів у процесі біогенезу клітинних оболонок рослин в умовах мікрогравітації, зокрема, целюлаз та пектиназ (при клінонстатуванні рослин), фенілаланінамоніліази та пероксидаз – при дії реальної мікрогравітації (на орбітальних апаратах). Крім цього, інформація щодо змін в апопласті вмісту іонів кальцію, які, є вторинними посередниками, відіграють суттєву роль у регуляції



Рис. 2.7.2.2. Схема основних біологічних ефектів та можливих механізмів впливу тривалого повільного горизонтального кліностакування (2 об/хв) на клітинні оболонки вищих рослин

міцності оболонки в залежності від гравітаційного навантаження може бути важливою для майбутніх досліджень механізмів регуляції росту рослин за умов зниження величини гравітаційної сили. Потоншені клітинні оболонки рослин в умовах мікрогравітації стають більш вразливими до вторгнення можливих патогенів, що також необхідно враховувати при створенні космічних оранжерей у системах життєзабезпечення астронавтів у тривалих космічних польотах.

Подальше поглиблене дослідження оболонок будь-якого типу клітин вимагає впровадження молекулярно-генетичних та імуноцитохімічних методів, відбору відповідних маркерів структурно-функціонального стану клітинних оболонок, які необхідно застосувати в космічній фітобіології, а також розробку спеціального обладнання, добір штучних субстратів (замісників ґрунту) і поживних середовищ для вирощування рослин протягом вегетаційного періоду в тривалих космічних польотах.

2.7.3. Гіпергравітація

У режимі виходу космічних апаратів на Земну орбіту в середині літальних апаратів протягом кількох хвилин виникає перевантаження (гіпергравітація) у межах 8 g. Крім того, у майбутніх міжпланетних польотах гіпергравітація може створювати перешкоди для нормальної життєдіяльності людини, рослин і тварин. Тому дослідження впливу гіпергравітації на живі організми є актуальним для розвитку космічної фітобіології. Гіпергравітацію в лабораторних умовах створюють при використанні центрифуг із різним діаметром ротора та різною швидкістю обертання.

У ранніх роботах по вивченню в лабораторних експериментах впливу гіпергравітації (з прискоренням 10 g і вище) на ріст, метаболізм та морфологічні ознаки рослин встановлено інгібування росту проростків, зміну метаболізму крохмалю, зміну морфології провідної системи стебел, епікотилів і гіпокотилів (Hoson et al., 1996; Brown, Piastuch 1994; Kasahara et al., 1995). Оскільки ріст рослинних клітин є опосередкованим ростом клітинних оболонок, то вивчення останніх стало необхідним при з'ясуванні біологічних ефектів дії гіпергравітації.

Лабораторне моделювання динамічних факторів в режимі підйому космічного корабля, в тому числі перевантаження в межах 7-10 g із одночасною дією вібрації (300-800 Гц) не викликало порушень мітозу та цитокінезу в меристемі коренів 5-ти добових проростків (Покровская і др., 1965), проте показало суттєвий вплив на ультраструктуру меристематичних клітин на рівні тришарового чохла коренів гороху (часткова втрата полярності диктіосом, набухання крист мітохондрій та ін.) та на ультраструктуру клітинних оболонок 9-ти добової протонеми моху фунарія вологомінра (Сытник і др., 1984). Короткочасне перевантаження сприяло формуванню перфорацій в оболонках клітин протонеми, порушенню структури цілостності плазмалеми, відходженню пекто-целюлозної оболонки від плазмалеми на віддаль до 40 нм, і появи в електронно-прозорому просторі між клітинною оболонкою та протопластом електронно-щільних включень, які за формою та розмірами нагадували типові кальцієві сайти (Сытник і др., 1984).

Дослідження впливу гіпергравітації на рослини показало, що, в першу чергу, відбувається зміна механічних параметрів оболонок, їхньої товщини та вмісту основних полісахаридів. Так, гіпергравітація в 300 g викликала потовщення вторинних клітинних оболонок у клітинах ксилемних елементів стебел *Arabidopsis thaliana* від $1,26 \pm 0,02$ (у контролі) до $1,56 \pm 0,03$ мкм, збільшення числа ксилемних клітин в 1,6 раза, а також зміну розміру поперечного зрізу ксилемних елементів від $90 \pm 2,39$ (у контролі) до $113 \pm 3,97$ мкм² (Nakabayashi et al., 2006).

За таких великих перевантажень (300 g), дія гіпергравітації протягом доби провокувала посилений синтез лігніну у вторинних оболонках стебел *Arabidopsis thaliana* (Tamaoki et al., 2004; 2006), у яких збільшувалася й кількість судин у стеблі. Використання інгібітора механорецепторів, хлориду гадолінію (0,1 мМ), пригнічувало вплив гіпергравітації на відкладання лігніну в оболонках, що дало змогу авторам припустити наявність взаємозв'язку між функціонуванням механорецепторів та синтезом лігніну (Tamaoki et al., 2004).

Дослідження механізму активації синтезу лігніну при дії гіпергравітації на епикотилі *Vigna angularis*, зокрема, активності пероксидази, зв'язаної із синтезом лігніну, показало достовірне збільшення її активності (Wakabayashi et al., 2009). Дослідники виявили, що 6-ти годинна дія гіпергравітації з прискоренням 300 g, на фоні пригнічення росту епикотіля, викликала стимуляцію латерального розтягу у верхній зоні епикотіля. Встановлено, що вміст ацетилбромідрозчинного лігніну поступово збільшувався від апікальної до базальної зони, такий ріст вмісту лігніну повністю корелював із підвищенням активності пероксидази. Отримані результати свідчать про збільшення механічних властивостей клітинних оболонок за дії гіпергравітації.

Дослідження впливу гіпергравітації на полісахариди матриксу клітинних оболонок також виявили їхню чутливість до дії чинника. Встановлено, що гіпергравітація в 300 g викликала збільшення молекулярної маси ксилоглюканів в епикотилі проростків *Vigna angularis* (Soga et al., 2007). Паралельно показана експресія трьох генів ксилоглюканендотрансглюкозилаз гідролази (*VaXTHS4*, *VaXTH1* та *VaXTH2*), що беруть участь у метаболізмі цього полісахариду. Гени *VaXTH1* та *VaXTH2* виявляли дію лише трансглюкозилазну активність і не діяли при гравітаційних навантаженнях. При перенесенні проростків із 1 g в умови 300 g, спочатку суттєво знижувалася експресія *VaXTHS4*, а через 1 годину дії гіпергравітації експресія гену та ефективність відповідного ферменту підвищувалася. Допускають, що епикотилі бобів у відповідь на зміну гравітаційної сили експресують саме ген *VaXTHS4*, оскільки гідролітична активність продукту *VaXTHS4* регулює молекулярну

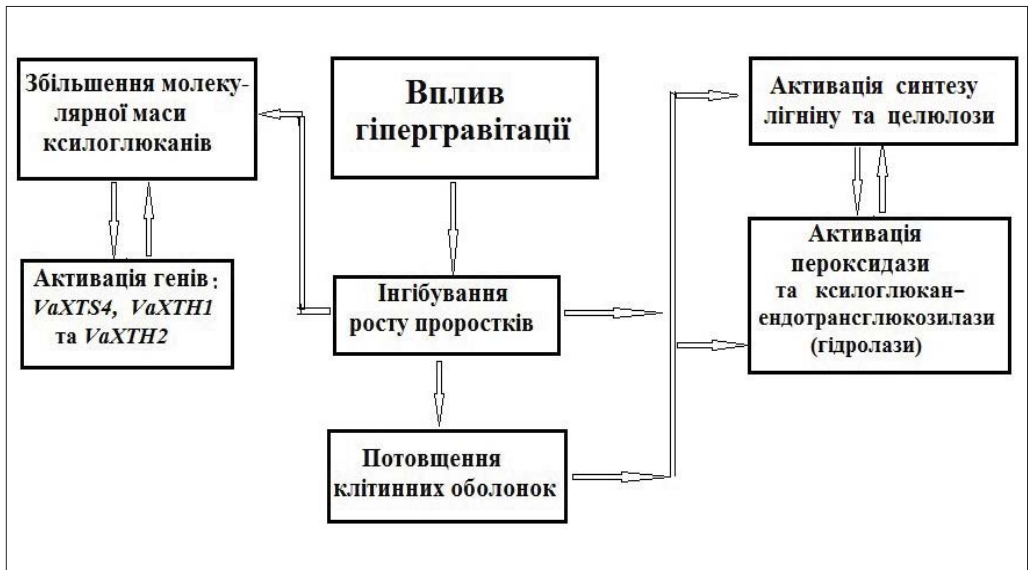


Рис. 2.7.3.1. Схема основних біологічних ефектів та можливих механізмів впливу гіпергравітації на клітинні оболонки рослин

масу ксилоглюкану, що призводить до модифікацій механічних властивостей клітинних оболонок та змін клітинного розтягу. Використання в дослідах інгібіторів механочутливих кальцієвих каналів (солі лантану та гадолінію) зводило на нуль експресію гену *VaXTHS4*, і цей факт дає можливість зробити висновок, що саме іони кальцію включаються в інгібування експресії *VaXTHS4* за умов дії гіпергравітації (Soga et al., 2007).

Дослідження впливу гіпергравітації (35 g і більше) на ріст етіолованих гіпокотилів *Lepidium sativum* показало, що паралельно з інгібуванням росту гіпокотилів, відбувається зниження механічного розтягу та збільшення часу стрес-релаксації клітинних оболонок (Hoson et al., 1996). Такі зміни механічних параметрів клітинних оболонок були помітними лише в нижній частині гіпокотिला. Вміст полісахаридів клітинних оболонок на одиницю довжини гіпокотила збільшувався при гіпергравітації, зокрема, збільшувався вміст целюлози в нижній частині органу. Проте гіпергравітація не впливала на вміст нейтральних цукрів у фракції пектину та геміцелюлоз. Вміст лігніну збільшувався при гіпергравітації, не дивлячись на його низькі значення (Hoson et al., 1996).

Таким чином, дослідження впливу гіпергравітації з використанням центрифуг показало, що при великих перевантаженнях посилюється механічна міцність стебел, змінюється їхня анатомічна структура та ультраструктура клітинних оболонок. Зокрема, змінюються склад та вміст полісахаридів в оболонках, які потовщуються, стають щільними та жорсткими; такі оболонки характеризуються зниженням розтягу, у клітинах спостерігається стимуляція синтезу лігніну та активності пероксидази (рис. 2.7.3.1) при експресії відповідних генів.

ПІДСУМКИ

У другому розділі монографії ми намагалися показати роль клітинних оболонок в комплексній адаптації рослини до несприятливого впливу навколишнього середовища, яке діє на ріст та розвиток рослин в онтогенезі. На основі даних вивчення структурно-функціональних змін клітинних оболонок рослин при дії несприятливих факторів встановлена як лабільність структури, так і зміни в метаболізмі клітинних оболонок, їхня участь в адаптації рослин до дії абіотичних та біотичних факторів. Зокрема, досліджено адаптацію клітин до забруднення ґрунтів важкими металами, впливу холоду, посухи, засолення, затоплення, до зміни гравітаційного навантаження (мікрогравітації та гіпергравітації), а також до впливу біотичних факторів.

Численими роботами, присвяченими вивченню дії іонів важких металів за умов забруднення промисловими відходами навколишнього середовища, показано, що суходільні та водні рослини являються унікальними природними адсорбентами для токсичних іонів. Іони важких металів при високих концентраціях згубно діють на ріст рослин. Проте рослини виробили механізми адаптації до дії токсичних металів. Рослини, поглинаючи із ґрунту мінеральні солі разом із токсичними металами, акумулюють останні в пектинах клітинних оболонок, коли ж оболонки переповнюються такими токсикантами, то клітини шляхом ендоцитозу акумулюють іони важких металів у вакуолях. Основні клітинні механізми природної адаптації до дії досліджуваного чинника полягають у підвищенні синтезу калози та пектинів, активні групи останніх зв'язують іони металів, та активації метал-транспортуючих АТФаз (для прискорення їх виведення ендоцитозом).

Дослідження впливу холоду та заморозків на життєдіяльність рослин показують, що рослини пристосовуються до таких екстремальних умов шляхом перебудов метаболізму, зокрема, синтезом білків холодового шоку, які, проходячи через клітинні оболонки на зовнішню сторону епідермальних клітин, беруть участь у рекристалізації льоду, що веде до формування невеликих кристалів, які не здатні проходити через оболонку в протопласт. Крім того, перебудови в протопласті призводять до зміни структури та складу як клітинних оболонок, так і цитоплазматичної мембрани. Клітинні оболонки стають жорсткішими, а плазмалема завдяки збільшенню вмісту триєнових жирних кислот також стає цупкою й, змінюючи свою структуру, електрофізіологічні та транспортні параметри, знижує обезводнення протопласта. Вищезазначені фізіологічні відповіді рослинних клітин відбуваються за участю відповідних структурних білків, ферментів та генів, що досліджено на молекулярно-генетичному рівні.

Вивчення впливу посухи на рослинні організми показало, що клітинні оболонки органів суходільних рослин беруть участь в адаптаційних процесах на дію цього чинника, що залежить від виду рослини та тривалості дії чинника. Якщо посуха тривала, то ріст рослини інгібується, що виявляється в змінах морфолого-анатомічних ознак і структурно-функціональних параметрів клітин, зокрема, в інгібуванні активності білків клітинних оболонок, що беруть участь у рості клітин розтягом. Для збереження оптимального тургору та водного потенціалу клітин листки та стебла знижують чи припиняють транспірацію. Клітинні оболонки коренів укриваються суберином, у коренях та стеблах формуються водні лакуни, які також оточені субериновими чи лігніфікованими оболонками. У клітинних оболонках листків та стебел відбувається посилений синтез воску та кутикули, лігніфікація та активація синтезу рамногалактуронанів, які беруть участь у зв'язуванні молекул води в апопласті. Лігніфікація та посилене відкладання воску в епідермальних клітинах листків сприяють збереженню водного потенціалу клітин шляхом закриття шляхів кутикулярної транспірації. Зміни у вмісті полісахаридів клітинних оболонок опосередковані активацією чи інгібуванням відповідних ферментів та експресією генів.

Аналіз численних даних про дію засолення на адаптаційну реакцію-відповідь рослин показав, що цей процес також залежить від виду та стійкості рослини до чинника. У сприйнятті сигналу засолення та його трансдукції беруть участь білки клітинної оболонки: MAP та SOS білки, кінази та кілька транскрипційних факторів. На організменному та органному рівнях спостерігається інгібування росту та прискорення розвитку, в яких задіяно клітинні оболонки коренів, стебел та листків. Для збереження оптимального водного потенціалу в коренях посилюється суберинізація клітин ендодерми, у листках інгібуються процеси продихової та кутикулярної транспірації. Інгібування росту клітин опосередковано змінами у структурі клітинних оболонок, в синтезі геміцелюлоз та пектинів, зокрема, у збільшенні вмісту неметильованих сайтів, що призводить до формування цупких жорстких клітинних оболонок. У клітинних оболонках збільшується вміст кристалічної целюлози та лігніну, що зупиняє ріст клітин та зберігає їхній оптимальний тургор. У цих процесах задіяні численні ферменти, зокрема, активуються експансини, пероксидази, метилестераза та ін.

Дослідження впливу природного чи штучного затоплення на рослини, показало, що спектр фізико-хімічних умов росту рослин під водою відрізняється від умов розвитку рослини на суходолі (Недуха, 2011). Це, насамперед, стосується зниження інтенсивності та обмеження спектру світла, що поглинається затопленими рослинами, зниження вмісту кисню, а також зміни вмісту та швидкості дифузії газів у водному середовищі, що спричиняє інгібування деяких процесів, у першу чергу через пригнічення аеробного дихання та зниження інтенсивності фотосинтезу. Проте рослини адаптуються до короткочасного затоплення шляхом інтенсифікації росту органів, що знаходяться під водою. У механізмі таких змін беруть участь полісахариди, фітогормони та білки клітинних обо-

лонок, зокрема, екстенсини, що задіяні в розпушенні клітинних оболонок, які ростуть розтягом. Крім того, справжні гідрофіти, які постійно ростуть під водою, адаптувалися до підводного існування шляхом певних структурно-функціональних змін у клітинах епідермісу листків. Підводні листки позбавлені продохів, воску, оболонки епідермальних клітин характеризуються розрихленою структурою, містять кутикулярні пори, вміст та розмір яких є видоспецифічним. Вищезазначені структурно-функціональні зміни відбуваються за участю ферментів і білків апопласту.

Використання порівняльних структурно-функціональних параметрів вивчення целюлози в підводних та надводних органах кількох видів рослин повітряно-водних рослин показало, що цей полісахарид бере участь у механізмі адаптації рослини до затоплення. Цитохімічним методом із використанням лазерної скануючої конфокальної мікроскопії встановлено, що затоплення викликає перерозподіл целюлози в тканинах. Біохімічними методами показано, що ріст рослин в умовах затоплення також відбувається на зниженні загального вмісту целюлози та її кристалічної форми, а також на збільшенні удвічі відношення аморфної целюлози до кристалічної. Молекулярні механізми цих змін поки лишаються відкритими.

Уперше встановлено, що природне затоплення викликає достовірне збільшення вмісту калози в периклінальних та антиклінальних оболонках клітин епідерми та клітинах судин провідних пучків підводних листків. Встановлено, що механізм посиленого синтезу калози у клітинних оболонках затоплених органів повітряно-водних рослин опосередковується змінами кальцієвого балансу в апопласті та цитоплазмі. Автор припускає, що цей процес, очевидно, може бути пов'язаним з активацією синтезу етилену та АБК.

Встановлено, що розподіл та вміст лігніну у клітинних оболонках рослин в умовах затоплення є функціональними показниками відповіді рослини на затоплення. Затоплення викликає посилений синтез лігніну в тканинах підводних листків у порівнянні з надводними листками *S. sagittifolia*; збільшення синтезу лігніну також відбувається у затоплених стеблах *Ludvigia repens* (Little, 2003). Експериментально показано, що затоплення впливає на розподіл та відносний вміст монолігнінів у клітинних оболонках епідермісу, фотосинтезуючої паренхіми та судин провідних пучків листових пластинок *S. sagittifolia*, *Myriophyllum spicatum* та *Potamogeton perfoliatus*. Встановлено, що вміст монолігнінів, синінгілу (S) та гваяцилу (G), відношення вмісту синінгілу до гваяцилу в тканинах залежить від виду, типу тканини та умов росту листків.

Дослідження механізмів реакції-відповіді клітинних оболонок рослин на дію біотичних факторів показали, що патоген, наближуючись до клітини та контактуючи із оболонкою клітини-хазяїна рослини, активує синтез літичних ферментів для фрагментації та лізису оболонки клітини-хазяїна. Рослинна клітина у відповідь на таку дію синтезує сигнальні молекули, що викликають швидку реакцію-відповідь на функціональному рівні: синтез власної полігалактуронази, яка, частково фрагментуючи свою оболонку, утворює оліго-

галактуроніди та індукує зміни кальцієвого балансу апопласту та активує Ca^{2+} -АТФазу плазмалеми. У клітині-хазяїна миттєво починає посилюватися синтез калози, лігніну та монолігнінів, зокрема, сиригїлу, це відбувається за участю експресії генів *CFOMT* та *F5P*, що робить клітинну оболонку жорсткішою та непроникною для патогена. Паралельно із цим у клітині-хазяїні посилюється синтез інгібуючого білка, збагаченого лейцином; цей білок названо полігалактуроназо-інгібуючий білок, який зв'язується з полігалактуроназою патогену. Крім того, в апопласті підвищується рівень реактивних форм кисню, які, як антибіотичні агенти, можуть виступати вторинними стрес-сигналами, що індукують захисні реакції рослинної клітини.

З'ясування ролі гравітації в життєдіяльності рослинного організму стало можливим при дослідженні впливу зміни її сили (мікрогравітації) на вищі та нижчі рослини в космічному польоті (Кордюм, Чепмен, 2003) та в умовах, які частково відтворюють біологічні ефекти реальної мікрогравітації в лабораторії (кліноостатування), а також гіпергравітації за допомогою центрифуг. У цьому розділі представлені дані експериментальних робіт по вивченню структурно-функціональної ролі клітинних оболонок при дії мікрогравітації, кліноостатування та гіпергравітації. Дія мікро- та гіпергравітації викликає суттєві зміни в структурі та складі клітинних оболонок рослинних організмів, що свідчить про їхню лабільність. Виявлені гравітаційно-чутливі ланки метаболізму клітинних оболонок мають загальний характер і, мабуть, властиві більшості вищих рослин. Показано, що зміни в структурі клітинних оболонок, складі полісахаридів, активації гідролаз зв'язані з типом клітин та тканин, тривалістю дії мікрогравітації: чим більша тривалість дії мікрогравітації на рослину, тим ці показники лабільніші. Встановлено, що синтез целюлози та калози в первинній оболонці змінюється під дією мікрогравітації. Показано вплив мікрогравітації на вторинні оболонки в залежності від тканини. Виявлено, що найбільш лабільними до впливу мікрогравітації виявилися периклінальні оболонки епідермальних клітин та клітин продихів. Зміни в структурі оболонок та зниження товщини кутикулярного шару й щільності, а також розмірів та щільності воскового нальоту є досить значними.

Виявлено, що гравітаційно-чутливими ланками метаболізму клітинних оболонок є процес синтезу целюлози, геміцелюлоз, пектину, лігніну та калози, кристалізація мікрофібрил целюлози, гідроліз внутрішніх і зовнішніх зв'язків целюлози й пектинових речовин, зв'язування вільних карбоксильних груп пектинів іонами кальцію або ж протонами. Проте молекулярні механізми таких змін поки не досліджені. Встановлено феномен зміни активності деяких ферментів у процесі біогенезу клітинних оболонок рослин в умовах мікрогравітації, зокрема, целюлаз та пектиназ при кліноостатуванні рослин, фенілаланінамонійліази та пероксидаз при дії реальної мікрогравітації (на орбітальних станціях). Механізми таких змін не вивчено. Лишаються також відкритими питання щодо механізмів формування пор у кутикулі, змін вмісту воску та лігніну, а також функціонального стану клітин, що беруть участь у становленні оптимального водного балансу рослини.

Крім цього, інформація щодо змін в апопласті вмісту іонів кальцію, які є вторинними посередниками і відіграють суттєву роль у регуляції міцності оболонки в залежності від гравітаційного навантаження, є досить важливою для майбутніх досліджень механізмів регуляції росту рослин за умов зниження величини гравітаційної сили. Потоншені клітинні оболонки рослин в умовах мікрогравітації стають більш вразливими до вторгнення патогенів, що необхідно також урахувати при створенні космічних оранжерей в системах життєзабезпечення астронавтів у тривалих космічних польотах.

Вивчення впливу гіпергравітації показало, що за великих перевантажень (300 g) посилюється механічна міцність стебел за рахунок збільшення кількості ксилемних клітин та їхніх поперечних розмірів. На фоні анатомічних змін відбуваються суттєві зміни в складі клітинних оболонок, активується синтез певних полісахаридів і лігніну, оболонки потовщуються, що робить клітинну оболонку щільнішою та жорсткішою, знижується механічний розтяг, відбувається активація синтезу пероксидаз та певних гідролаз при експресії відповідних генів.

SUMMARY

This book provides a broad overview of the evidence for an understanding of the role of plant cell wall in growth and development of plant in normal fluctuations as well as during influence of unfavorable environmental fluctuations. The monograph has been performed with use of reference data, including own experimental data. It provides the results of the growing number of scientists interested in plant cell walls with an overview of some of the key research areas, and provides a modern and classical data conceptual bridge between the wealth of biochemistry-, cytology- and molecular-oriented cell wall literature that had been accumulated over the last decades. The structure, composition and function of plant cell wall are presented in the first chapter, and the cell wall plasticity, including adaptive structural-functional responses of cell walls of plants under unfavorable environmental fluctuations is expounded in the second chapter.

Plant cell walls are consisted predominantly of the polysaccharides cellulose, hemicellulose, and pectin, although secondary walls are often rigidified by the impregnation of lignin, a heterogenous aromatic polymer. The structure of the plant cell has been extensively reviewed previously and is described briefly here (in the first chapter). This book provides a general review of the structure and synthesis of cellulose, pectin, hemicelluloses, lignin, cutin, wax and callose, besides it is revealed hemicellulose/cellulose composites (HCC). In the pioneer, empirical research, HCC was made from different types of hemicelluloses (such as arabinoxylan, glucomannan, xyloglucan) and different nano-cellulose grades.

The first chapter expounds the regulatory mechanisms and the much more limited functional and intermolecular interaction information on five plant cell wall protein classes. These protein classes include the extensins, the glycine-rich proteins (GRPs), the proline-rich proteins (PRPs), the solanaceous lectins, and the arabinogalactan proteins (AGPs). These classes of proteins may be evolutionarily related to one another, most obviously because each of them, with the exception of the GRPs, contains hydroxyproline, and less obviously in the case of the GRPs since their nucleotide sequence is similar to that of extensins.

The first chapter provides an overview of polysaccharide composition and structure primary and secondary cell wall and characterizes by a long-established field, but one that remains extra ordinarily challenging and open to debate. Developing clearer visions of secondary walls and wall structural proteins, the dynamic multi functional nature of plant walls, including mechanisms of information exchange with the protoplast, and the exquisite regulation of wall synthesis, restructuring and disassembly, are discussed in this chapter. But recent discoveries

have revealed the mechanisms that involved in the assemble polysaccharides and proteins for building wall as strong fibrous network and in the regulate wall expansion during cell growth. Also, there is concludes with a summary of some of the genome-scale approaches that are providing remarkable new opportunities and perspectives of wall biology. The application of molecular modelling methods to the realistic description of cell wall polysaccharides is described. The basic principles and tools are presented; they provide a consistent description of the levels of structural organization of polysaccharides, from the basic monomer components to the more complex assemblies of macromolecular chains and their interactions.

The role of cell walls in adaptation of plants to unfavorable environmental changes at cellular and molecular levels is considered in the second chapter of this book. The responses of plants to action of environmental fluctuations have been analyzed intensively at cellular, biochemical, physiological and molecular levels. The structural and functional liability of cell walls, their participation in adaptation to abiotic and biotic factors are presented in many own experimental data using the methods of electron microscopy, cytochemical, biochemical and molecular methods.

The next unfavorable environmental factors are studied: action of heavy metals pollution, cold, drought, salinity of soil, submergence, microgravity and hypergravity. Moreover, the influence of pathogen invasion into plant and the participation of plant cell walls in adaptation to pathogen invasion have been analyzed. Plants are subjected to constant and sometimes potentially damaging variations in their immediate environment. Rapid perception of these changes and appropriate phenotypical adjustments in response to environmental fluctuations is critical for plants in view of their sessile nature. The plant cell wall is a key determinant of plant responses to these environmental stresses. Modification of cell wall properties can modulate growth when it is necessary or equip a plant with an impregnable physical barrier. The modification of the structurally complex plant cell wall is accomplished by the participation of various proteins, which has specific target action.

The study of heavy metal effects on plant growth has shown that upland and aquatic plants are unique natural adsorbents for toxic ions. High density of heavy metals in soil can inhibit of plant growth because plants absorb mineral salts together with toxic ions of heavy metals. Plants possess a range of potential cellular mechanisms that may be involved in the detoxification of heavy metals. Plant cell walls absorb toxic ions of metals and then these ions are bounded with free carboxyl groups of pectin. Transport ATPases of plasmalemma take part in securing against ions of heavy metals, which overcrowd an apoplast. Such ATPases are hastened the transport of endocytotic vesicles (with ions of heavy metals) to vacuole.

The influences of cold and frost on plant life activity have been shown by many authors. The synthesis of cold shock proteins is observed in a cytoplasm. Then such proteins are transported

to outside of cell walls of epidermis, where they took part in recrystallization of large ice crystals. The content of polysaccharides and structure of plant cell walls are changed under influence of cold. Abovementioned changes are accompanied by the alterations of plasmalemma functions as well as by the participation of the structural proteins and expression of the adequate genes.

The drought affects negatively to the growth of roots and leaves. It has been established on the basis of biochemical, structural and molecular investigation of the influence of drought on plant growth and development. The cell walls of roots and leaves are participated in adaptation to drought. This is depend on species, plant type and influence duration. The inhibition of plant growth, the change of morphological and anatomical signs, and the inhibition of some proteins synthesis in walls are occurred under prolonged drought. Besides that, the transpiration of leaves is decreased or stopped for preservation of optimal turgescence. The processes in plant cell walls may be attributed to the adaptive mechanisms: suberin is synthesized in roots; wax, lignin and ramnogalacturonans are also synthesized in stem and leaves; the activity of the enzymes bounded with metabolism of polysaccharides, wax, lignin and suberin is increased.

Salinity of soil is environmental factor that greatly limits crop production and growth and development of plants. It has been established on the basis of biochemical, structural and molecular investigation of the influence of salt stress on plant growth. Adaptive response reaction depends on species and plant resistance to salinity. Cell walls participate in adaptation mechanisms to salinity. Proteins of apoplast (MAP, SOS and kinases) perceive the signals of salinity and pass of these signals in cytoplasm. The metabolism of plant cell walls is changed, namely: suberin synthesis is intensified in cells of root endo- and hypoderm; stomata and cuticular transpiration is decreased in leaves; the content of crystalline form of cellulose, wax and lignin are increased in walls; activity of apoplast proteins (expansins, peroxydases and metylesterases) is considerably increased. Consequently, cell walls are made more hard and compact, and this property help to inhibition of transport water on apoplast and it also help to preserve of adequate cell turgor. A great number of ramnogalacturonans is synthesized in wall matrix; a ramnogalacturonans are bound with free water molecules for preservation of its optimal content in apoplast.

The study of the influence of natural and artificial submergence on plant growth shows that exogenous factors (poor light, changed speed of diffusion and content of CO₂, O₂ and ethylene in water and around of flooded plant) are the main effectors that affects to growth of plant. There are the inhibition of aerobic respiration in roots, a decrease of photosynthesis in leaves and a change in organs' growth rate in flooded plants. However, terrestrial plants during short flood and aquatic plants that can grow long time under water are produced the special cell mechanisms, which help to plants survive. It was established that plant cell walls are took part in adaptation to submergence on the basis of complex investigations of structural and functional organization of flooded plants. These adaptation mechanisms are expressed in the next: an absence of stomata

and wax in leaf epidermis; a loosening of cellulose microfibrils in walls of epidermal tissue and a formation of cuticle pores in leaf epidermis; the decline of common cellulose content, a content of crystalline form of cellulose; an increase of content of amorphous cellulose and hemicelluloses in cell walls; an intensification of lignin and callose synthesis; the change in a ratio of monolignins (syringil and quaiacyl) content in walls; the activation of peroxydases, an intensification of ethylene synthesis and a change in calcium balance in apoplast.

Gravitational biology elucidates a biological role of gravity by conducting research on the influence of altered gravity – real microgravity in space flight and the laboratory conditions (at 1 g) that partially reproduce biological effects of real microgravity (clinorotation) as well as hypergravity (centrifugation) on various plants (Kordyum, Chapmen, 2003). This chapter of book provides a broad overview to elucidates the biochemical and structural-functional changes in plant cell walls of plants which were grown over a long and short duration in real microgravity (in space flight), at horizontal clinorotation and/or centrifugation. It was shown that cell walls of plant are labile structure that are changed structure one's and polysaccharides content depend on tissue type, growth phase and duration of effectors. It was established the gravitational-sensible levels of cell wall metabolism, including a polysaccharides synthesis (cellulose, hemicelluloses, pectin, callose), lignin synthesis, a crystallization of microfibrils cellulose, a hydrolysis of the connection of cellulose molecules with pectin molecules, the change of calcium balance of apoplast, the activity of pectinase, peroxidase and cellulase, as well as and wall ultrastructure (Nedukha, 1997).

Cell wall architecture is an important determinant of plant resistance to biotic stresses. A rigid cell wall can fend off pathogen attack by forming an unpenetrable physical barrier. When breached, products released during wall modification can trigger plant defense signaling. This chapter documents and discusses studies demonstrating the importance of timely cell wall modification during plant stress responses to focusing on a well-researched subset of wall modifying proteins. Biotic agents often utilize their own array of cell wall modifying proteins to degrade the plant cell wall and gain access to the plant host. Modification of the cell wall content and releases certain compounds that can trigger defense responses and provide protection of the plant, including active forms of oxygen, ions of calcium, faster synthesis of lignin and callose, as well as and the synthesis of inhibitory protein (polygalacturonase) happened when plant is attacked by pathogen.

ЛІТЕРАТУРА (розділ 2)

- Аверьянов А.А., Ланикова В.П. Peroксидазная активность выделений здоровых и зараженных пирикулярнозом листьев риса // Докл. РАН. – 1995. – **340**. – С. 702-704.
- Белкания Г.С. Функциональная система антигравитации // Проблемы косм. биол. – 1982. – **45**. – С. 1-289.
- Белявская Н.А. Цитологические аспекты влияния гипогравитации на гравичувствительные клетки корня // Укр. ботан. журнал. – 1983. – **40**. – С. 56–60.
- Белявская Н.А. Локализация Ca^{2+} -активируемых АТФаз в гравирецепторных клетках корней гороха при действии блокаторов кальциевых каналов // Цитология и генетика. – 1998. – **32**. – С. 3-8.
- Белявская Н.А. Роль ионов кальция в механизмах гравирецепции и эффектах микрогравитации на клеточном уровне / Проблемы космической биологии. – М.: Наука, 1994. – С. 82–144.
- Белявская Н.А. Корень: тканевой, клеточный и молекулярный уровни растений / Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. – К.: Наук. думка, 2003. – С. 137–176.
- Білявська Н.О. Механізми гравірецепції у рослин за участю іонів кальцію // Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть. Київ. 2001. – С. 52-56.
- Белявская Н.А., Кордюм Е.Л., Подлуцкий А.Г. Особенности локализации Ca^{2+} -АТФаз в клетках корней гороха при клиностатировании // Цитология. – 1988. – **30**. – С. 84-87.
- Билай В.М. Основы микологии. Ред. В.М. Ольхович. – Киев: Высшая шк. - 1989. – 390 с.
- Галибина Н.А., Терехова Е.Н. Особенности свойств клеточных стенок хвои здоровых и ослабленных растений сосны обыкновенной // Физиол. растений. – 2008. – **55**. – С. 419–425.
- Гончарова Е.А., Балтига С.В. Изучение растворимых сахаров у дерева груши во время увядания методом бумажной хроматографии. Кишинев: Штиница, 1971.
- Горшкова Т., Заботина О., Лозовая М. Регенерация клеточной оболочки протопластами // Материалы III Всес. конф. «Биосинтез целлюлозы». Казань: Татарпрокаттехприбор, 1985. – С. 41.
- Гродзовская О.А. Влияние измененной гравитации на состав клеточных оболочек *Zea mays* // Автореферат канд. диссертации, Казань, Институт биологии, 1986. – С. 1-24.
- Гродзовская О.А., Заботина О.В., Лозовая В.В., Таирбеков М.Г. Влияние измененной силы гравитации на содержание клеточных оболочек кукурузы // Материалы III Всес. конф. «Биосинтез целлюлозы». Казань: Татарпрокаттехприбор, 1990. – С. 55-56.
- Гудвин Т.М., Мерсер Е.И. Введение в биохимию растений, Москва: Мир, 1986- 2. -312 с.
- Гуровский Н.И., Газенко О.Г., Ильин Е.А. и др. Значение биологических экспериментов в космосе и программа исследований на биоспутниках // В кн.: Биологические исследования на биоспутниках «Космос». – М.: Наука, 1979. – С. 9 –15.
- Дмитриев А.П. Фитоалексины и их роль в устойчивости растений. – К.: Наук. Думка, 2000. – 208 с.
- Дмитриев А.П. Сигнальные молекулы растений для активации защитных реакций в ответ на биотический стресс // Физиология растений. – 2003. – **50**. – С. 465-474.
- Доронин Ю.П. Физика океана. – Санкт-Петербург: РГМУ, 2000. – 340 с.
- Дубинин Н.П., Ваулина Э.Н. Эволюция и гравитация // Проблемы косм. биол. - 1976. – **33**. – С. 7-17.
- Жук О.І. Формування адаптивної відповіді рослин на дефіцит води // Физиология и биохимия культурных растений. – 2011. – **43**. – С. 26-37.
- Заботина О.А. Влияние условий измененной гравитации и невесомости на состав клеточных оболочек высших растений // Автореферат канд. дисс. Казань: Институт биологии, 1987. – 24 с.
- Заботина О.А., Гродзовская Т.С., Лозовая В.В., Таирбеков М.Г. Изменение содержания клеточных стенок проростков кукурузы в условиях невесомости // Мат. 2-ой Всес. конф. «Биосинтез целлюлозы». Казань: Изд. Полиграфкомбинат, 1985. – С. 56-57.

- Клесов А.А. Ферментативная реорганизация целлюлозы // Изв. АН СССР. Сер биол. – 1986. – 2. – С. 190-200.
- Клесов А.А., Сеницын А.П. Ферментативный гидролиз целлюлозы. IV. Влияние физико-химических и структурных факторов на эффективность субстрата ферментативного гидролиза // Биоорганическая химия. – 1981. – N 7. – С. 1801-1812.
- Козеко Л.В. Белки теплового шока 90кДа: разнообразие, структура и функции // Цитология. – 2010. – 52. – С. 893-910.
- Колупаев Ю.Е., Карлец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. Киев: Изд. «Основа», 2010. – С. 1-349.
- Кордюм Е.Л. Современные проблемы клеточной биологии // Ботаника и микология на пути в третье тысячелетие. Под ред. С.П. Вассера. Киев, 1996. – С. 245-255.
- Кордюм Е.Л. Фенотипічна пластичність у рослин: загальна характеристика, адаптивне значення, можливі механізми, відкриті питання // Укр. ботан. журн. – 2001. – 58. – С. 141-151.
- Кордюм Е.Л. Устойчивость и пластичность онтогенеза растений, современные проблемы клеточной биологии // В кн.: Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. Ред. Е.Л. Кордюм. Киев: Наук. Думка, 2003. – С. 31-64 с.
- Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Белявская Н.А. и др. Современные проблемы космической биологии // Проблемы космической биологии. Москва: Наука, 1994. – С. 82-144.
- Кордюм Е.Л., Сытник К.М. Концепция стресса // В кн.: Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. Ред. Е.Л. Кордюм. Киев: Наук. Думка, 2003. – С. 11-19 с.
- Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В., Белявская Н.А., Климчук Д.А., Недуха Е.М. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. Ред. Е.Л. Кордюм. Киев: Наук. Думка, 2003. – 277 с.
- Кордюм Е., Чепмен Д. Рослини в космосі. Київ: Академперіодика, 2007. – 214 с.
- Косаковская И.В. Стрессовые белки растений. Киев: Изд. Фитосоцицентр. – 2008. – 152 с.
- Кумахова Т. Анатомия и ультраструктура внешних слоев плодов яблок разных сортов яблони // Биол. Науки. – 1987. – 2. – С. 59-62.
- Курсанов А.Л. Транспорт ассимилятов в растении. Москва: Мир, 1976. – 646 с.
- Ландсберг Г.С. Элементарный учебник физики. – М: Наука, 1986. – Том 3. – 656 с.
- Ландсберг Г.С. Оптика. – 2003. – М.: Физматлит, 2003. – 848 с.
- Лауринавичус Р., Ярошус А., Марчукайтис А. и др. Метаболизм растений гороха, выросших в космическом полете // Биологические исследования на орбитальной станции «Салют». Ред Н. Дубинин. Москва: Наука, 1984. – С. 96-102.
- Лозовая В.В. Особенности формирования клеточной стенки изолированными протопластами высших растений. Казань: Изд.: Казанского Ин-та биологии АН СССР, 1987. – 126 с.
- Меркус А.И. Геотропическая реакция растений. Вильнюс: Минтис, 1973.
- Мирославов Е.А. Структура и функция эпидермиса листа растений. Ленинград: Наука, 1974.
- Молотковский Г.С. Полярность растительного роста. Львов: изд. Львовского ун-та, 1961.
- Недуха О.М. Вплив кліностагування на ультраструктуру протонемі *Funaria hygrometrica* Hedw. // Укр. ботан. ж. – 1986. – 43. – С. 20-23.
- Недуха Е.М. Электронноцитохимическая локализация Ca^{2+} -АТФаза в клетках протонемі мха *Funaria hygrometrica* при гипогравитации // Цитология и генетика – 1987. – 21. – С. 3-5.
- Недуха Е.М. Роль целлюлаз в механизме изменений клеточной оболочки протонемі мха при клиностагировании // Матер. Ш Всес. Конф. «Биосинтез целлюлозы». Казань: Татарпрокаттехприбор, 1990. – С. 24.
- Недуха О.М. Структура і механізми змін клітинної оболонки в невагомості та при кліностагуванні // Автореферат докт. дисертації. Київ, Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, 1994, а. – С. 1-24.

- Недуга О.М. Механизмы изменений клеточной оболочки при микрогравитации // Материалы 10-ой конф. по авиакосмической и медицинской физиологии. Москва: Слово. - 1994, б. – С. 93-94.
- Недуга О.М. Лист: тканевой, клеточный и молекулярный уровни // В кн.: Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. Киев: Наук. думка, 2003. - С. 177-218.
- Недуга О.М. Вміст і форми целюлози у листках екоформ *Sium latifolium* L. на стадії фегетативного росту // Укр. ботан. журн. – 2010, а. – 67. – С. 119-126.
- Недуга О.М. Особливості структури клітин епідермісу підводних листків деяких гідрофітів // Доповіді НАН України. – 2010, б. – N 11. – С. 143-147.
- Недуга О.М. Гетерофілія у рослин. Київ. Вид. Альтерпрес. 2011. - 191 с.
- Недуга О. М. Гетерофілія у *Sagittaria sagittifolia* L. I. Анатомічна характеристика надводних і підводних листків // Укр. ботан. журн. – 2012, а. - 69, N 3. – С. 447-455.
- Недуга О. М. Гетерофілія у *Sagittaria sagittifolia* L. II. Ультраструктура поверхні надводних і підводних листків // Укр. ботан. журн. – 2012, б. - 69, N 4. – С. 596-603.
- Недуга О.М. Ультраструктура поверхні епідерми плаваючих і підводних листків *Trapa natans* L. // Modern Phytomorphology. – 2012. – Vol. 1. - P. 77-80.
- Недуга О.М. Ультраструктурна характеристика клітин та аналіз пігментів плаваючих і підводних листків *Trapa natans* L. // Modern Phytomorphology. – 2012. – Vol. 1. - P. 81-84.
- Недуга О.М. Структурні особливості клітинних оболонок листків *Sagittaria sagittifolia* L. та *Trapa natans* L. // Modern Phytomorphology. – 2013. Vol. 3. – С. 259-265.
- Недуга О.М. Порівняльне дослідження калози у підводних та повітряних листках *Sagittaria sagittifolia* L. // Modern Phytomorphology. – 2014. – Vol. 6. – С. 331-336.
- Недуга О.М., Кордюм Є.Л., Даневич Л.А. Вплив гіпергравітації на вміст калози в клітинах протонеми моху *Funaria hygrometrica* Hedw. // Укр. ботан. журн. – 1988. – 16. – С. 58-60.
- Недуга Е.М., Кордюм Е.Л., Даневич Л.А. Ефекты клинотатирования на регенерацию клеточной оболочки *Solanum tuberosum* L. // Матер. Ш Всес конф «Биосинтез целлюлозы». Казань: Татарпротектехприбор, 1990. – С. 55.
- Недуга Е.М., Кордюм Е.Л., Филиппенко В.Н., Чучкин В.Г. Влияние микрогравитации на клеточные оболочки надземных органов проростков *Impatiens balsamine* L. // Препринт – N 137-B-91. ВИНТИ. Москва. – 1991, а. – С. 1-22.
- Недуга Е.М., Кордюм Е.Л., Нечитайло Г. Влияние 16-ти дневного космического полета на ультраструктуру клеток *Triticum durum* L. // Препринт – N 138-B-91. ВИНТИ. Москва. – 1991, б. – С. 1-22.
- Недуга Е.М., Кордюм Е.Л., Овруцкая И.И., Сытник К.М. Изменения структуры клеток устьиц листьев пшеницы при влиянии микрогравитации // ДАН УССР. Серия биол. – 1994. – N 2. – С. 169-171.
- Недуга Е.М., Кордюм Е.Л., Овруцкая И.И., Матвеева Н. Эффекты клинотатирования на содержание полисахаридов в регенерирующих оболочках протопластов *Brassica oleracea* L. // ДАН УССР. – 1996. – N 4. – С. 129-132.
- Недуга О.М., Кордюм Є.Л., Овруцька І.І. Фенотипічні зміни клітин листової пластинки *Alisma plantago-aquatica* L. при водному дефіциті. I. Анатомічний аналіз та структура поверхні епідермісу // Укр. ботан. журн. – 1998. – N 4. – С. 369-375.
- Недуга О.М., Котенко Т.Б. Гетерофілія у *Trapa natans* L. Морфолого-анатомічна будова листків // Modern Phytomorphology. – 2012. – Vol. 2. – P. 29-33.
- Недуга Е.М., Котенко Т.Б. Влияние природного затопления на распределение и содержание лигнина в листьях *Sagittaria sagittifolia* L. // Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной среде. Материалы Всероссийской научн. конф. 10-13 июня 2013. Иркутск, 2013. – С. 165-167.
- Недуга О.М., Овруцька І.І. Ефекти водного дефіциту на вміст полісахаридів клітинних оболонок листків // Доповіді НАН України. – 1998. – N 11. – С. 170-173.
- Недуга Е.М., Трутнева И.А. Роль пектина в механизмах изменений клеточных оболочек протонемы мха при клинотатировании // ДАН УССР. Серия биол. – 1988. – N 7. – С. 75-78.

- Недуха Е.М., Чучкин В.Г., Филиппенко В.Н. Ультраструктура клеток апикальной меристемы стеблей, семядолей и гипокотили проростков *Impatiens balsamine* L. // Сб.: Результаты исследований на биоспутниках. Ред О. Газенко. Москва: Наука, 1992. – С. 309-312.
- Некрасова Г.Ф., Ронжина Д.А., Малеева М.Г., и др. Фотосинтетический метаболизм и активность карбоксилирующих ферментов у надводных, плавающих и погруженных листьев гидрофитов // Физиология растений. – 2003. – 50. N1. – С. 65-75.
- Платонова Р.Н., Парфенов Г.П., Жваликовская В.И. Ориентация растений в невесомости // В кн.: Биологические исследования на биоспутниках «Космос». – М.: Наука, 1979. – С. 149–160.
- Покровская Г.Л., Беляева Л.А., Головкина А.В. Влияние вибрации на деление клеток костного мозга // Космич. исслед. – 1965. – 3. – С. 525-658.
- Полевой В.В. Роль ауксина в системах регуляции растений. Ленинград: Наука, – 1986.
- Попов В.Н., Антипова О.В., Бураханова Е. Участие инвертазы клеточной стенки в низкотемпературном закаливании растений табака // Физиология растений. – 2013. – 60. – Р. 214-220.
- Раздорский В.Ф. Архитектоника растений. Москва: Сов. Наука, 1955.
- Рубин Б.А., Ладыгина М., Воронков Л.А., Картачева Е. Физиологический статус опухолевой ткани индуцируемой *Agrobacterium tumefaciens* // Биологические исследования на биоспутниках «Космос». Ред. Ильин Е., Парфенов Г. Москва: Наука. – 1979. – С. 126-136.
- Стасевич Р.А. Становление «чистой» невесомости и проблема гравитации в космосе // Материалы 5-ых Чтений посвященных научной деятельности К. Циолковского. Москва: Наука. – 1971. – С. 24-32.
- Сытник К.М., Кордюм Е.Л., Недуха Е.М. Структурно-функциональная организация клеток протонемы *Funaria hygrometrica*, выросшей в течение 96 суток в условиях космического полета // ДАН УССР. – 1980. - N 10. – С. 93-95.
- Сытник К.М., Кордюм Е.Л., Недуха Е.М. Сидоренко П.Г., Фомичева В.М. Растительная клетка при изменении геофизических факторов. Киев: Наукова Думка, 1984.
- Сытник К.М., Кордюм Е.Л. Космическая фитобиология: состояние и перспективы // Космическая наука и техника. Сборн. научн. трудов. Киев: Наук. думка, 1986. – С 43-51.
- Таирбеков М., Лозовая М., Заботина О. и др. Морфологическая характеристика и состав клеточной стенки проростков кукурузы, выросших в невесомости // Физиология растений. – 1988. – 35. – С. 226-233.
- Таирбеков М., Кордюм Е., Климчук Д. и др. Рост изолированных растительных клеток в условиях космического полета (Эксперимент «Протопласт») // Изв. АН СССР. – 1992. – N 6. – С. 5-17.
- Таирбеков М., Парфенов Г., Платонова Р., Зваликовская В. Исследование растительной клетки с использованием аппарата «Биофиксатор-1» // В сб.: Биологические исследования на биоспутниках «Космос». Москва: Наука, 1979. – С. 161-169.
- Тарасенко В.А. Ультраструктура клеток колумеллы корневого чехлика арабидопсиса в условиях клин-статирования // XI Всес. раб. совещ. по вопросам круговорота веществ в замкнутых системах на основе жизнедеятельности низших организмов. Киев: Наукова думка, 1983. – С. 151-154.
- Тарчевский И.А., Марченко Г.Н. Биосинтез и структура целлюлозы. Москва: Наука, 1985.
- Черевченко Т.М., Заіменко Н.В. Тропічні епіфитні орхідеї – об'єкт досліджень космічної ботаніки та елемент дизайну кабіни космічних кораблів і орбітальних станцій // Космічна наука і технологія. – 1998 – 4. – С. 141-147.
- Черевченко Т.М., Заіменко Н.В. Влияние микрогравитации на физиолого-биохимическим преобразованием у орхидных различного экотипа // Биологический вестник. – 2003. – 7. – С. 45-78..
- Эсау К. Анатомия растений. Москва: Мир, 1980.
- Abeles F.B., Morgan P.W., Saltveit M.E. Stress ethylene // In: Ethylene in Plant Biology 2nd edition. San Diego, CA, USA: Acad Press, 1992.
- Adler E. Lignin Chemistry - Past, Present and Future // Wood Science and Technology. – 1977. – 11. – P. 169–218.
- Agrois G. N. Plant Pathology. 3rd Ed. San Diego, USA.: Acad. Press Inc., 1988.

- Aguirrezabal L., Bouchier-Combaud S., Radziejwoski A. et al. Plasticity to soil water deficit in *Arabidopsis thaliana*: dissection of leaf development into underlying growth dynamic and cellular variables reveals invisible phenotypes // *Plant Cell Environ.* – 2006. – **29**. – P. 2216–2227.
- Aharoni A., Dixit S., Jetter R. et al.. The SHINE Clade of AP2 Domain Transcription Factors Activates Wax Biosynthesis, Alters Cuticle Properties, and Confers Drought Tolerance when Overexpressed in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* – 2004. – **16**. – P. 2463-2480.
- Akgül M., Cöpür Y., Temiz S.A. Comparison of kraft and kraft-sodium borohydrate brutia pine pulps // *Building and Environment.* – 2007. – **42**. – P. 2586–2590.
- Albenne C., Canut H., Jamet E. Plant cell wall proteomics: the leadership of *Arabidopsis thaliana* // *Frontiers in Plant Science.* – 2013. - **4**. - Article 111.
- Allona I, Quinn M, Shoop E. et al. Analysis of xylem formation in pine by cDNA sequencing // *Proc. Nat. Acad. Sci. U SA.* – 1998. – **95**. – P. 9693–9698.
- Aloni J., Delmer D., Benziman M. Achievement of high rates of *in vitro* synthesis of 1-4-β-D-glucan activation by cooperative interaction of the *Acetabularia xylinum* enzyme system with GTP, polyethylene glycol and protein factor // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 1982. – **79**. – P. 6448-6452.
- Alvarez S., Marsh E.L., Schroeder S.G., Schachtman D.P. Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought // *Plant Cell and Envir.* – 2008. – **31**. – P. 325-340.
- Aronson J., Kigel J., Shmida A., Klein J. Adaptive phenology of desert and Mediterranean populations of annual plants grown with and without water stress // *Oecologia.* – 1992. – **89**. – P. 17–26.
- Atici O., Nalbantoglu B. Antifreeze proteins in higher plants // *Phytochemistry.* – 2003. – **64**. – P. 1187-1196.
- Azmat R., Haider S. Pb stress on phytochemistry of seedling of *Phaseolus mungo* and *Lens culinaris* // *Asian. J. Plant Sci.* – 2007. – **6**. – P. 332-337.
- Bacic A., Harris P.J., Stone B.A. The Biochemistry of Plants. Ed. Priess J., Acad. Press, N.Y., 1988. – 297 p.
- Bacon M. The biochemical control of leaf expansion during drought // *Plant Growth Regul.* – 1999. – **29**. – P. 101–112.
- Bailey-Serres J., Voeselek, L.A.C.J. Flooding Stress: acclimations and genetic diversity // *Ann. Rev. Plant Biol.* – 2008. – **59**. – P. 313–339.
- Banga M., Slaa E. J., Blom C.W.P.M., Voeselek L.A.C. J. Ethylene biosynthesis and accumulation under drained and submerged conditions - A comparative study of two *Rumex* species // *Plant Physiol.* – 1996. – **112**. – P. 229–237.
- Bara M., Gordon A.S. The effect of gravity compensation on growth and cell wall-loosening in *Helianthus annuus* hypocotyls // *Physiol. Plant.* – 1972. – **27**. – P. 277-280.
- Barnes J.D., Bettarini I., Polle A. Et al. The impact of elevated CO₂ on growth and photosynthesis in *Agrostis canina* L. sp. monteluccii adapted to contrasting atmospheric CO₂ concentrations // *Oecologia.* – 1997. – **110**. – P. 169-178.
- Barnett J.R. Rings of collapsed cells in *Pinus radiata* stem wood from lysimeter-grown trees subjected to drought // *N. Z. J. For. Sci.* – 1976. – **6**. – P. 461-465.
- Bartels D., Sunkar R. Drought and salt tolerance in plants // *Crit. Rev. Plant Sci.* – 2005. – **24**. – P. 23–58.
- Baucher M., Monties B., Van Montagu M., Boerjan W. Biosynthesis and genetic engineering of lignin // *Crit. Rev. Plant Sci.* – 1998. – **17**. – P. 125-197.
- Bedon F., Grima-Pettenati J., Mackay J. Conifer R2R3-MYB transcription factors: sequence analyses and gene expression in wood-forming tissues of white spruce (*Picea glauca*) // *BMC Plant Biology.* – 2007. – **7**. – P. 1-17. (doi:10.1186/1471-2229-7-17).
- Belyavskaya N. Free and membrane-bound calcium in microgravity and effects at the membrane level // *Adv. Space Res.* – 1995. – **17**. – P. 169-177.
- Bestwick C.S., Brown J.R., Bennet M.H., Mansfield J.D. Localization of hydrogen peroxide accumulation during the hypersensitive reaction of lettuce to *Pseudomonas syringae* pv. Phaseolicola // *Plant Cell.* – 1997. – **9**. – P. 209-221.

- Bestwick C.S., Brown J.R., Mansfield J.W. Localization changes in peroxidase activity accompany hydrogen peroxide generation during the development of nonhost hypersensitive reaction in lettuce // *Plant Physiol.* – 1998. – **18**. – P. 1067-1078.
- Bhuiyan N.H., Liu W., Liu G. et al. Transcriptional regulation of genes involved in the pathways of biosynthesis and supply of methyl units in response to powdery mildew attack and abiotic stresses in wheat // *Plant Mol. Biol.* – 2007. – **64**. – P. 305-318.
- Bhuiyan N.H., Selvaraj G., Wei Y., King J. Role of lignification in plant defense // *Plant Signaling and Behavior.* – 2009. – **4**. – P. 158-159.
- Binet M.N., Bourque S., Lebrun-Garcia A. et al. Comparison of the effects of cryptogein and oligogalacturonides on tobacco cells and evidence of different form of desensitization induced by these elicitors // *Plant Sci.* – 1998. – **137**. – P. 33-41.
- Blodgett J.T., Herms D.A., Bonello P. Effects of fertilization on red pine defense chemistry and resistance to *Sphaeropsis sapinea* // *Forest Ecology and Management.* – 2005. – **208**. – P. 373-382.
- Boeger M.R.T., Poulson M.E. Morphological adaptations and photosynthesis rates of amphibious *Veronica anagallis-aquatica* (Scrophulariaceae) under different flow regimes // *Aquat. Bot.* – 2003. – **75**. – P. 123-135.
- Boerjan W., Ralph J., Baucher M. Lignin biosynthesis // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2003. – **54**. – P. 519-546.
- Bok-Rye L., Kil-Yong K., Woo-Jin J. Et al. Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water-deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.) // *J. Exp. Bot.* – 2007. – **58**. – P. 1271-1271.
- Boller T. Chemoperception of microbial signals in plant cells // *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1995. – **46**. – P. 189-214.
- Boller T., Felix T. FLS2: An LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in Arabidopsis // *Mol. Cell.* – 2000. – **5**. – P. 1003-1011.
- Boller T., Felix G. A Renaissance of Elicitors: Perception of Microbe-Associated Molecular Patterns and Danger Signals by Pattern-Recognition Receptors // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2009. – **60**. – P. 379-406.
- Bolwell G.P. Synthesis of cell wall components: aspects of control // *Phytochemistry.* – 1988. – **27**. – P. 1235-1253.
- Bolwell G.P., Bindschedler L.V., Blee K.A. et al. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system // *J. Exp. Bot.* – 2002. – **53**. – P. 1367-1376.
- Bonello P., Blodgett J.T. *Pinus nigra* - *Sphaeropsis sapinea* as a model pathosystem to investigate local and systemic effects of fungal infection of pines // *Physiol. Molec. Plant Pathol.* – 2003. – **63**. – P. 249-261.
- Borman S. Push for New Materials, Chemicals from Biomass Spark Active R&D // *Chem. Eng. News.* – 1990. – **37**. – P. 19-22.
- Bouchabke O., Tardieu F., Simonneau T. Leaf growth and turgor in growing cells of maize (*Zea mays* L.) respond to evaporative demand under moderate irrigation but not in water saturated soil // *Plant Cell Environ.* – 2006. – **29**. – P. 1138-1148.
- Boudet Alain-M. Towards an understanding of the supramolecular organization of the lignified wall. In: *The Plant Cell Wall.* Ed. Jocelyn K. C. Rose. Dep. Plant Biol. Cornell Univ. Ithaca, NY, USA., 2001. – P. 155-182.
- Bray E.A. Genes commonly regulated by water-deficit stress in *Arabidopsis thaliana* // *J. Exp. Bot.* – 2004. – **55**. – P. 2331-2341.
- Bret-Harte M.S., Talbott L.D. Changes in compositions of the outer epidermal cell wall of pea stems during auxin-induced growth // *Planta.* – 1993. – **190**. – P. 369-378.
- Britton Kerry O. One world, many pathogens! University of Nebraska – Lincoln Digital Commons and University of Nebraska – Lincoln. USDA Forest Service. National Agroforestry Center, 2013. – 223 p.
- Brown R M. The biosynthesis of cellulose // *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.* – 1996. – **A 33**. – P. 1345-1373.
- Brown A.H., Dahl A.O., Chapman D.K. Morphology of *Arabidopsis* grown under chronic centrifugation and on the clinostat // *Plant Physiol.* – 1976, a. – **57**. – P. 358-364.
- Brown A.H., Dahl A.O., Chapman D.K. Limitation on the use of the horizontal clinostat as a gravity compensa-

- tor // *Plant Physiol.* – 1976, b. – **58**. – P. 127–130.
- Brown P.H., Bellaloui N., Wimmer M. et al. Boron in plant biology // *Plant Biol.* – 2002. – 4. – P. 205–223.
- Brown R.M., Cudlicka K., Cousing S.K., Nagy R. Gravity effects on cellulose assembly // *Amer. J. Bot.* – 1992. – **79**. – P. 1247–1258.
- Brown C.S., Piastuch W.C. Starch metabolism in germination soybean cotyledons is sensitive to clinorotation and centrifugation // *Plant, Cell and Environ.* – 1994. – **17**. – P. 341–344.
- Bruce R.J., West C.A. Elicitation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragments in suspension-cultures of castor bean // *Plant Physiol.* – 1989. – **91**. – P. 889–897.
- Bruni N.C., Yang J.P., Dengler N.G. Leaf development plasticity of *Ranunculus aquatilis* in response to terrestrial and submerged environments // *Can. J. Bot.* – 1996. – **74**. – P. 823–827.
- Buchel A.S., Linthorst H.J.M. PR-1: A group of plant proteins induced upon pathogen infection // In: Pathogenesis-related proteins in plants. Eds. Datta S.K., Muthukrishnan. Boca Raton: CRC Press LLC, 1999. – P. 21–47.
- Budíková S. Structural changes and aluminium distribution in maize root tissues // *Biol. Plantarum.* – 1999. – **42**. – P. 259–266.
- Bush D.S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biology.* – 1995. – **46**. – P. 95–122.
- Camacho-Cristybal J., Herrera-Rodriguez M., Beato V. et al. The expression of several cell wall-related genes in *Arabidopsis* roots is down-regulated under boron deficiency // *Environ. Exp. Bot.* – 2008. – **63**. – P. 351–358.
- Cameron K., Teece M., Smart L.B. Increased accumulation of cuticular wax and expression of lipid transfer protein in response to periodic drying events in leaves of tree tobacco // *Plant Physiol.* – 2006. – **140**. – P. 176–183.
- Cassab G. I. Plant cell wall proteins // *Annual Rev. Plant Biol.* – 1998. – **49**. – P. 281–309.
- Castaceda P., Púrez L.M. Calcium ions promote the response of *Citrus limon* against fungal elicitors or wounding // *Phytochemistry.* – 1996 – **42**. – P. 595–598.
- Carpin S., Crevecoeur M., de Meyer M. et al. Identification of a Ca²⁺-pectate binding site on an apoplastic peroxylase // *Plant Cell.* – 2001. – **13**. – P. 511–520.
- Chabannes, M., Ruel, K., Yoshinaga, A. et al. *In situ* analysis of lignins from tobacco transgenic lines down-regulated for several enzymes of monolignol synthesis reveals a differential impact of transformation on the spatial patterns of lignin deposition at the cellular and subcellular levels // *Plant J.* – 2001. – **28**. – P. 271–282.
- Chaikam V., Karlson D. Comparison of structure, function and regulation of plant cold shock domain proteins to bacterial and animal cold shock domain proteins // *BMB reports.* – 2010. – **43**. – P. 1–8.
- Chalmers J., Lidgett A., Cummings N. et al. Molecular genetics on fructan metabolism in perennial ryegrass // *Plant Biotechnol. J.* – 2005. – **3**. – P. 459–474.
- Chang Y-C., Yamamoto Y., Matsumoto H. Accumulation of aluminium in the cell wall pectin in cultured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cells treated with a combination of aluminium and iron // *Plant Cell Environ.* – 1999. – **22**. – P. 1009–1017.
- Chazen O., Hartung W., Neumann P. The different effects of PEG 6000 and NaCl on leaf development are associated with differential inhibition of root water transport // *Plant Cell Environ.* – 1995. – **18**. – P. 727–735.
- Chen P.M., Gunighara W.P. Ultrastructure deference in leaf cell of *Solanum* species in relation to their frost resistance // *Bot. Gaz.* – 1977. – **138**. – P. 267–285.
- Chen N., Siegel S.M., Siegel B.L. Gravity and land plant evolution. Experimental induction of lignification by stimulated hypergravity and water stress // *Life Sci. Space Res.* – 1980. – **18**. – P. 193–198.
- Chen Ei-Lu, Chen Y.A., Chen L.M., Liu Z.H. Effect of copper on peroxylase activity and lignin content in *Raphanus sativus* // *Plant Physiol. Biochem.* – 2002. – **40**. – P. 439–444.
- Chen Z., Hong X., Zhang H. et al. Disruption of the cellulose synthase gene, *AtCesA8/IRX1*, enhances drought and osmotic stress tolerance in *Arabidopsis* // *The Plant J.* – 2005. – **43**. – P. 273–283.

- Chen X.Y., Kim J.Y. Callose synthesis in higher plants // *Plant Signal Behav.* – 2009. – **4**. – P. 489–492.
- Cheng S-H., Willmann M.R., Chen H-C., Sheen J. Calcium signaling through protein kinases. The *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase gene family // *Plant Physiol.* – 2002. – **129**. – P. 469–485.
- Cherevchenko T., Zaimenko N., Mayko T. et al. Influence of microgravity on phytohormones and cell ultra-structure of tropic orchids // *Abstr. of COSPAR Sci Assem, 30th, Hamburg.* – 1994. – P. 280.
- Cherevchenko T., Zaimenko N., Mayko T., Sytnyanskaya N. Effect of simulated microgravity on phytohormones and cell structure of tropic orchids // *Adv. Space Res.* – 1995. – **17**. – P. 107-110.
- Cherevchenko T.M., Zaimenko V.V., Sytnjanskaja N. et al. The effect of clinorotation on structural and functional organization of assimilate tissues, cells and growth regulator activity in orchids of different ecotypes // *Adv. Space Res.* – 1998. – **21**. – P. 1163.
- Chinnusamy V., Zhu Z., Zhu J.-K. Cold stress regulation of gene expression in plants // *TRENDS Plant Sci.* – 2007. – **12**. – P. 444–451.
- Cho H.T., Kende H. Expansins and internodal growth of deepwater rice // *Plant Physiol.* – 1997, a. – **113**. – P. 1145–1151.
- Cho H.T., Kende H. Expression of expansin genes is correlated with growth in deepwater rice // *Plant Cell.* – 1997, b. – **9**. – P. 1661–1671.
- Choi D., Lee Y., Cho H.T., Kende H. Regulation of expansin gene expression affects growth and development in transgenic rice plants // *Plant Cell.* – 2003. – **15**. – P. 1386–1398.
- Chrispeels M., Mauer C. Aquaporins: The molecular basis of facilitated water movement through living plant cell // *Plant Physiol.* – 1994. – **105**. – P. 9-15.
- Christiernin M. Composition of Lignin in Outer Cell-Wall Layers. // *Doctoral Thesis. Royal Institute of Technology. Division of Wood Chemistry and Pulp Technol.* Stockholm, 2006. – P. 1–53.
- Chuanzao M., Keke Y., Ling Y. et al. Identification of aluminium-regulated genes by cDNA-AFLP in rice (*Oryza sativa* L.): aluminium-regulated genes for the metabolism of cell wall components // *J. Exp. Bot.* – 2004. – **55**. – P. 137-143.
- Clark A., Bohnert H. Epidermis-specific transcripts: nucleotide sequence of a full-length cDNA of EP112 encoding a putative lipid transfer protein // *Plant Physiol.* – 1993. – **103**. – P. 677–678.
- Clark A., Bohnert H. Cell specific expression of genes of the lipid transfer protein family from *Arabidopsis thaliana* // *Plant and Cell Physiol.* – 1999. – **40**. – P. 69-76.
- Clarke A., Stone B.A. Chemistry and biochemistry of β -1,3-glucans // *Reviews of pure and applied chemistry.* – 1963. – **13**. – P. 134–156.
- Clay N.K., Adio A.M., Denoux C. et al. Glucosinolate metabolites required for an *Arabidopsis* innate immune response // *Science.* – 2009. – **323**. – P. 95-101.
- Cleland, R.E. The capacity for acid-induced wall loosening as a factor in the control of *Avena* coleoptile cell elongation // *J. Exp. Bot.* – 1983. – **34**. – P. 676-680.
- Clouse S.D. Molecular genetic analysis of brassinosteroid action // *Physiol. Plant.* – 1997. – **100**. – P. 702–709.
- Cobbett C.S. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification // *Plant Physiol.* – 2000. – **123**. – P. 825-832.
- Collet L., de Leon C., Kollmeier M., et al. Assessment of aluminium sensitivity of maize cultivars using roots of intact plants and excised root tips // *Plant Nutr. Soil. Sci.* – 2002. – **165**. – P. 357–365.
- Colmer T.D., Pederson O. Underwater photosynthesis and respiration in leaves submerged wetland plants: gas films improve CO₂ and O₂ exchange // *New Phytol.* – 2008. – **177**. – P. 918-926.
- Cosgrove D.J. Relaxation in a high-stress environmental: the molecular bases of extensible cell wall and cell enlargement // *Plant Cell.* – 1997. – **9**. – P. 1031–1041.
- Cosgrove D. J. Molecular regulator of plant cell wall extensibility // *Gravitational and space Biol. Bulltin.* – 1998. – **11**. – P. 61-70.
- Cosgrove D.J. Loosening of plant cell walls by expansins // *Nature.* – 2000. – **407**. – P. 321–326.
- Cosgrove D. J. Wall Structure and Wall Loosening. A Look Backwards and Forwards // *Plant Physiol.* – 2001. – **125**. – P. 131–134.
- Cosgrove D.J. Growth of the plant cell wall // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2005. – **6**. – P. 850–861.

- Cover T.M., Harb T.A., Krishnan A. et al. Molecular and physiological analysis of drought stress in *Arabidopsis* reveals early responses leading to acclimation in plant growth // *Plant Physiol.* – 2010. – **154**. – P. 1254–1271.
- Cowles J.R., Scheld H.W., Lemay R., Peterson C. Growth and lignification in seedling exposed to eight days of microgravity // *Ann. Bot.* – 1984. – Suppl. 3. – P. 33-48.
- Cvetanovska L., Klincharska-Jovanovska I., Dimeska G. et al. Anatomical and physiological disorder after intoxication with heavy metals in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) // *Proceedings of 2nd Balkan conference on biology. 21-23 May 2010, Plovdiv - 50 Years University of Plovdiv, 2010.* – P. 4.
- Czihak C., Muller M, Schober H. et al. Dynamics of water adsorbed to cellulose // *Physica B.* – 1999. – **266**. – P. 87-91.
- Davies P.L., Baardsnes J., Kuiper M.J., Walker V.K. Structure and function of antifreeze proteins // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B-Biol. Sci.* – 2002. – **357**. – P. 927–933.
- Davies T.A., Volesky B., Mucci A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae // *Water Res.* – 2003. – **37**. – P. 4311-4330.
- Davies W.J., Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil // *Ann. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* – 1991. – **42**. – P. 55–76.
- de Cnodder T., Vissenberg K., van der Straeten D., Berbelen J.P. Regulation of cell length in the *Arabidopsis thaliana* root by the ethylene precursor 1–aminocyclopropane–1–carboxylic acid: a matter of apoplastic reactions // *New Phytol.* – 2005. – **168**. – P. 541–550.
- De Lorenzo G., D'Ovidio R., Cervone F. The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIPs) in defence against pathogenic fungi // *Annu Rev. Phytopathol.* – 2001. – **39**. – P. 313-335.
- De Micco V., Aronne G. Morpho-Anatomical Traits for Plant Adaptation to Drought // In: *Plant Responses to Drought Stress, From morphology to molecular features.* Ed. R. Aroca, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2012. – P. 37-61.
- De Olivera A.B., Alencar N.L., Gomes-Fiho E. Comparison Between the Water and Salt Stress Effects on Plant Growth and Development // In: *TECH.* - 2013. - P. 67-94. (<http://dx.doi.org/10.5772/54223>).
- Decreux A., Messiaen J. Wall-associated kinase WAK1 interacts with cell wall pectins in a calcium-induced conformation // *Plant and Cell Physiol.* – 2005. – **46**. – P. 268–278.
- del Viso F., Puebla A.F., Fusari C.M. et al. Molecular characterization of a putative sucrose: fructan 6- fructosyltransferase (6-SFT) of the cold-resistant patagonian grass bromus pictus associated with fructan accumulation under low temperatures // *Plant Cell Physiol.* – 2009. – **50**. – P. 489–503.
- Delmer D.P., Amor Y. Cellulose biosynthesis // *The Plant Cell*. – 1995. – **7**. – P. 987-1000.
- Demarty M., Morvan C., Thellier M. Calcium and the cell wall // *Plant Cell Environ.* – 1984. – **7**. – P. 441-448.
- Demiray H., Esiz Dereboylu A. Effects of excess and deficient boron and niacin on the ultrastructure of root cells in *Daucus carota* cv. Nantes // *Turkish J. of Bot.* – 2013. – **37**. – P. 160-167.
- Dhugga K.S., Tiwari S.C., Ray P.M. A reversibly glycosylated polypeptide (RGP1) possible involved in plant cell wall synthesis: purification, gene cloning and trans-golgi localization // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – **94**. – P. 7679-7684.
- Diaz J., Bernal A., Pomar F., Merino F. Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification // *Plant Sci.* – 2001. – **161**. – P. 179-188.
- Dieter P. Calmodulin and calmodulin-mediated processes in plants // *Plant Cell Environ.* – 1984. – **7**. – P. 371-380.
- Dixon R.A., Lamb C.J. Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens // *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1990. – **41**. – P. 339-367
- Djikanovic D., Kalauzi A., Radotic K. et al. Deconvolution of lignin fluorescence spectra: a contribution to the comparative spectral studies of lignins // *J. Physical chemistry.* – 2007. – **81**. – P. 1425-1429.
- Donaldson L.A. Lignification and lignin topochemistry – an ultrastructural view // *Phytochemistry.* – 2001. – **57**. – P. 859-873.
- Donaldson L.A. Abnormal lignin distribution in wood from severely drought stressed *Pinus radiata* trees // *IAWA Journal.* – 2002. – **23**. – P. 161-178.

- Donghua Liu, Wusheng Jiang, Meng Q. et al. Cytogenetical and ultrastructural effects of copper on root meristem cells of *Allium sativum* L. // Biocell. – 2009. – **33** – P. 25-32.
- Downes G.M., Ward J.V. Turney N.D. Lignin distribution across tracheid cell walls of poorly lignified wood from deformed copper deficient *Pinus radiata* D. Don. // Wood Sci Technol. – 1991. – **25**. – P. 71-14.
- Dronnet V.M., Renard C.M., Axelos M.A., Thibault J.F. Heavy metals binding by pectins: selectivity, quantification and characterization // Carbohydr. Polym. – 1996. – **30**. – P. 253-263.
- Edelmann H. G., Neinhuis C., Jarvis M. et al. Ultrastructure and chemistry of the cell wall of the moss *Rhacocarpus purpurascens* (Rhacocarpaceae): a puzzling architecture among plants // Planta. – 1998. – **206**. – P. 315–321.
- Ederli L., Reale L., Ferranti F., Pasqualini S. Responses induced by high concentration of cadmium in *Phragmites australis* roots // Physiol. Plant. – 2004. – **121**. – P. 66-74.
- El Kayal W., Keller G., Debayles C. et al. Regulation of tocopherol biosynthesis through transcriptional control of tocopherol cyclase during cold hardening 873 in *Eucalyptus gunnii* // Physiol. Plant. – 2006. – **126**. – P. 212-223.
- Ellis M., Egelund J., Schultz C., Bacic A. Arabinogalactan-proteins: key regulators at the cell surface? // Plant Physiol. – 2010. – **153**. – P. 403–419.
- Entry J.A., Runion G.B., Prior S.A. et al. Influence of CO₂ enrichment and nitrogen fertilization on tissue chemistry and carbon allocation in longleaf pine seedlings // Plant and Soil. – 1998. – **200**. – P. 3-11.
- Ernst W.H., Verkleij J.A., Schat H. Metal tolerance in plants // Acta Bot. Neerl. – 1992. – **41**. – P.229-248.
- Eticha D., Stass D.A., Horst J.W. Cell-wall pectin and its degree of methylation in the maize root apex significance genotypic differences in aluminium resistance // Plant Cell Envir. – 2005, b – **28**. – P. 1410-1420.
- Ewing W.S. The effect of salinity on the morphological and anatomical characteristics of *Atriplex triangularis* Willd. // Master's thesis. Dep. of Botany, Ohio Univ., Athens, OH, USA, 1981.
- Exton J.H. Calcium signaling in cells-molecular mechanisms // Kidney Int. – 1987. – **52**, Suppl. 23. – P. 68-76.
- Fahn A. Some anatomical adaptations in desert plants // Phytomorphology. – 1964. – **14**. – P. 93–102.
- Favaron F., Alghisi P., Marciano P. Characterization of two *Sclerotinia sclerotiorum* polygalacturonases with different abilities to elicit glyceollin in soybean // Plant Sci. – 1992. – **83**. – P. 7-13.
- Ferrari S, Vairo D., Ausubel F.M. et al. Tandemly duplicated Arabidopsis genes that encode polygalacturonase-inhibiting proteins are regulated coordinately by different signal transduction pathways in response to fungal infection // Plant Cell. – 2003. – **15**. – P. 93-106.
- Fleck A.T., Nye T., Repenning C., Stahl F. et al. Silicon enhances suberization and lignification in root of rice (*Oryza sativa*) // J. Exp. Bot. – 2011. – **62**. – P. 2001.
- Ford C.W., Morrison I.M., Wilson J.R. Temperature effects on lignin, hemicellulose and cellulose in tropical and temperate grasses // Austr. J. Agricultural Res. – 1979. – **30**. – P. 621-633.
- Franke R., Hemm M.R., Denault J.W. et al. Changes in secondary metabolism and deposition of an unusual lignin in the *ref8* mutant of *Arabidopsis* // Plant J. – 2002. – **30**. – P. 47-59.
- Franks S.J., Sim S., Weis E.A. Rapid evolution of flowering time by an annual plant in response to a climate fluctuation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 2007. – **104**. – P. 1278–1282.
- Freudenberg K., Neish A. Constitution and Biosynthesis of Lignin. Berlin, Heidelberg, New-York: Springer-Verlag, 1968.
- Frost-Christensen H., Bolt Jorgensen L., Flotoo F. Species specificity of resistance to oxygen diffusion in thin cuticular membranes from amphibious plants // Plant, Cell and Environ. – 2003. – **26**. – P. 561–569.
- Frost-Christensensen H., Floto F. Resistance to CO₂ diffusion in cuticular membranes of amphibious plants and the implication for CO₂ acquisition // Plant Cell and Environ. – 2007. – **30**. – P. 12–18.
- Fry S.C., Miller J.G., Dumville J.C. A proposed role for copper ions in cell wall loosening // Plant and Soil. – 2002. – **247**. – P. 57–67.
- Fukao T., Xu K., Ronald P.C., Bailey-Serres J. A variable cluster of ethylene response factor-like genes regulates metabolic and developmental acclimation responses to submergence in rice // Plant Cell. – 2006. – **18**. – P. 2021–2034.

- Ge C., Yan D., Wang Z. et al. Response of wheat seedlings to cadmium, mercury and trichlorobenzene stress // J. Environm. – 2009. – **21**. – P. 806-813.
- Geilfus C.-M., Zorb C., Muhling K.H. Salt stress differentially affects growth-mediating α -expansins in resistant and sensitive maize (*Zea mays* L.) // Plant Physiol. Biochem. – 2010. – **48**. – P. 993–998.
- Ghanati F., Morita A., Yokota H. Deposition of suberin in roots of soybean induced by excess boron // Plant Science. – 2005. – **168**. – P. 397–405.
- Gielwanowska I., Pastorczyk M., Kellmann-Sopyla W. Influence of environmental changes on physiology and development of polar vascular plants // Papares on Global Change. – 2011. – **18**. – P. 53–62.
- Glerum C. Drought ring formation in conifers // For. Sci. – 1970. – **16**. – P. 246–248.
- Goldbach H.E., Wimmer M.A. Boron in plants and animals: is there a role beyond cell-wall structure? // J. Plant Nutrition and Soil Sci. – 2007. – **170**. – P. 39–48.
- Goliber T.E. Gravitational stress and lignification in aerial vs. submerged shoots of *Hippurus vulgaris* // Physiol. Plant. – 1986. – **169**. – P. 443–453.
- Gomes E., Jakobsen M.K., Axelsen K.B. et al. Chilling tolerance in *Arabidopsis* involves ALA1, a member of a new family of putative aminophospholipid translocases // Plant Cell. – 2000. – **12**. – P. 2441–2453.
- Graham L., Campbell R., Walker V., Davies P. Novel dimer β -helical model of an ice nucleation protein with bridged active sites // BMC: Structural Biol. – 2011. – **36**. – doc. 10 1186/1472-6607-11-36.
- Granier C., Tardieu F. Multi-scale phenotyping of leaf expansion in response to environmental changes: the whole is more than the sum of parts // Plant Cell Environ. – 2009. – **32**. – P. 1175–1184.
- Grene R., Vasquez-Robinet C., Bohnert H.J. Molecular biology and physiological genomics of dehydration stress // In: Plant desiccation tolerance. Eds. Lüttge U, Beck E., Bartels D. Springer, Heidelberg, 2011. – P. 255–288.
- Griffith M., Brown G. Cell wall deposition in winter rye *Secale cereale* L. «puma» during cold acclimatization // Bot. Gaz. – 1982. – **143**. – P. 486–490.
- Griffith M., Ala P., Yang D.S. et al. Antifreeze protein produced endogenously in winter ryeleaves // Plant Physiol. – 1992. – **100**. – P. 593–596.
- Griffith M., Lumb C., Wiseman S.B. et al. Antifreeze proteins modify the freezing process in planta // Plant Physiol. – 2005. – **138**. – P. 330–340.
- Grime J.P. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory // The American Naturalist. - 1977. – **111**. – P. 1169–1194.
- Guern J. Regulation from within: the hormonal dilemma // Ann. Bot. – 1987. – **60**. – P. 75–102.
- Haass K., Schonherr J. Composition of soluble cuticular lipids and water permeability of cuticular membranes from *Citrus* leaves // Planta. – 1979. – **146**. – P. 399–403.
- Hagege D., Kevers C., Boucaud J. Activities peroxidasiques, production d'ethylene, lignifications of limitayion de croissance chez *Suaeda maritime* cultive en absence de NaCl // Plant Physiol. Bioche. – 1988. – **26**. – P. 609–614.
- Hall J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance // J. Exp. Bot. – 2002. – **53**. – P. 1–11.
- Hannah M.A., Heyer A.G., Hinch D.K. A global survey of gene regulation during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. // PLoS Genetics. – 2005. – **1**. – P. e26.
- Hano C., Addi M., Bensaddek L. et al. Differential accumulation of monoglignol-derived compounds in elicited flax (*Linum usitatissimum*) cell suspension cultures // Planta. – 2006. – **223**. – P. 975–989.
- Hao P.Y., Liu C.X., Wang Y.Y. et al. Herbivore-induced callose deposition on the sieve plates of rice: an important mechanism for host resistance // Plant Physiol. – 2008. – **146**. – P. 1810–1820.
- Harb A., Krishnan A., Ambavaram M.M.R., Perefra A. Molecular and physiological analysis of drought stress in *Arabidopsis* reveals early responses leading to acclimation in plant growth // Plant Physiol. – 2010. – **154**. – P. 1254–1271.
- Hauke V., Schreiber L. Ontogenetic and seasonal development of wax composition and cuticular transpiration of ivy (*Hedera helix* L.) sun and shade leaves // Planta. – 1998. – **207**. – P. 65–75.
- Hausman J.F., Evers D., Thiellement H., Jouve L. Compared responses of poplar cuttings and *in vitro* raised shoots to short-term chilling treatments // Plant Cell Reports. – 2000. – **19**. – P. 954–960.

- Hegedus A., Erdei S., Horvath G. Comparrative stidies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress // *Plant Sci.* – 2001. – **160**. – P. 1085-1093.
- Hendry G. The ecological significance on fructan in a contemporary flora // *New Phytol.* – 1987. – **106**. – P. 201–216.
- Hendry G. Evolutionary origins and natural functions of fructans – a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal // *New Phytol.* – 1993. – **123**. – P. 3–14.
- Herth W. Calcofluor white and congo-red inhibit microfibril assembly of *Poteriochromonas*: evidence for a gap between polymerization and microfibril formation // *J. Cell Biol.* – 1980. – **84**. – P. 642-658.
- Heskel M. Environmental Controls of Foliar Respiration in Arctic Tundra Plants // Submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in the Graduate School of Arts and Sciences. Columbia University, 2013. – 222 p .
- Hilal M., Parrado M., Rosa M. et al. Epidermal lignin deposition in quinoa cotyledons in response to UV-B radiation // *Photochem. and Photobiol.* – 2004. – **79**. – P. 205–210.
- Hillel D. Salinity; Management // In: *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Eds. Hillel D., Hatfield J.H., Powlson D.S. et al. London: Elsevier/Acad. Press, 2005. – P. 435-442.
- Hisano H., Kanazawa A., Kawakami A. et al. Transgenic perennial rye grass plants expressing wheat fructosyltransferase genes accumulate increased amounts of fructan and acquire increased tolerance on a cellular level to freezing // *Plant Sci.* – 2004. – **167**. – P. 861–868.
- Hisano H., Kanazawa A., Yoshida M. et al. Coordinated expression of functionally diverse fructosyltransferase genes is associated with fructan accumulation in response to low temperature in perennial ryegrass, // *New Phytol.* – 2008. – **178**. – P. 766–780.
- Hoffman E., Schonherr K., Hampf R. Regeneration of plant cell protoplasts under microgravity: A D-2 SpaceLab experiment // *Proc. of COSPAR Sci. Assemble, 30th, Hamburg, 1994.* – P. 277.
- Hofmann J., Youssef-Banora M., de Almeida-Engler J. et al. The role of callose deposition along plasmodesmata in nematode feeding sites // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2010. - **23**. – P. 549–557.
- Hoffmann-Benning S., Kend H. On the role of abscisic-acid and gibberellin in the regulation of growth in rice // *Plant Physiol.* – 1992. – **99**. – P. 1156–1161.
- Horiguchi G , Ferjani A , Fujikura U , Tsukaya H. Coordination of cell proliferation and cell expansion in the control of leaf size in *Arabidopsis thaliana* // *J. Plant Res.* – 2006. – **119**. – P. 37–42.
- Horst W.J., Puëschel A.K., Schmohl N. Induction of callose formation is a sensitive marker for genotypic aluminium sensitivity in maize // *Plant Soil.* – 1997. – **192**, N 1. – P. 23–30.
- Horst W.J., Wang Y., Eticha D. The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium.resistance of plants: a review // *Ann. Bot.* – 2010. – **106**. – P. 185–197.
- Hose E., Clarkson D.T., Steudle E., et al. The exodermis: a variable apoplastic barrier // *J. Exp. Bot.* - 2001. – **52**. – P. 2245–2264.
- Hoson T., Nishitani K , Miyamoto K. et al. Effects of hypergravity on growth and cell wall properties of cress hypocotyls // *J. Exp. Bot.* – 1996. – **47**. – P. 513-517
- Hoson T., Soga K., Mori R. et al. Stimulation of elongation growth and cell wall loosening in rice coleoptiles under microgravity conditions in space // *Plant Cell Physiol.* – 2002. – **43**. – P. 1067-1071.
- Hoson T., Soga K., Wakabayashi K. et al. Growth and cell wall changes in rice roots during spaceflight // *Plant Soil.* – 2003. – **255**. – P. 19-26.
- Hossain A.K., Koyama H., Yara T. Growth and cell wall properties of two wheat cultivars differing in their sensitivity to aluminium stress // *J. Plant Physiol.* – 2006. – **163**. – P. 39-47.
- Inmaculada Yr. Copper in plants // *Braz. J. Plant Physiol.* – 2005. – **17**. – P. 145-156.
- Iraki N.M., Bressan R.A., Hasegawa P.M., Carpita N.C. Alteration of the physical and chemical structure of the primary cell wall of growth-limited plant cells adapted to osmotic stress // *Plant Physiol.* – 1989, a. – **91**. – P. 39–47.
- Iraki N.M., Singh N., Bressan R.A., Carpita N.C. Cell walls of tobacco and changes in composition associated with reduced growth upon adaptation to water and saline stress // *Plant Physiol.* – 1989, b. – **91**. – P. 48–53.

- Iversen T.H., Rasmussen O., Gmunder F. et al. Effect of microgravity on the development of plant protoplasts grown on Biocosmos 9 // Adv. Space Res. – 1992. – **12**. – P. 123-131.
- Jackson M.B. Ethylene-promoted elongation: an adaptation to submergence stress // Ann. Bot. – 2008. – **101**. – P. 229–248.
- Jackson M.B., Armstrong W. Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence // Plant Biol. – 1999. – **1**. – P. 274–287.
- Jamet E., Albenne C., Boudart G. et al. Recent advances in plant cell wall proteomics // Proteomics. – 2008. – **8**. – P. 893–908.
- Jamjod S., Nirunrayagul S., Rerkasem B. Genetic control of boron efficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Euphytica. – 2004. – **135**. – P. 21–27.
- Janas K.M., Cvikrova M., Palagiewicz A., Eder J. Alterations in phenylpropanoid content in soybean roots during low temperature acclimation // Plant Physiol. Biochem. – 2000. – **38**. – P. 587-593.
- Jarvis MC. The proportion of calcium-bounded pectin in plant cell walls // Planta. – 1982. – **154**. – P. 344–346.
- Jeffree C.E., Johnson P.C., Jarvis P.G. Epicuticular wax in the stomatal antechamber of *Sitka Spruce* and its effects on the diffusion of water vapor and carbon dioxide // Planta. – 1971. – **98**. – P. 1-10.
- Jiang W., Liu D. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. // BMC Plant Biology. – 2010. – **10**. – P. 1-8.
- Jiang W., Wang C. Zinc distribution and zink-binding forms in *Phragmites australis* under zinc pollution // J. Plant Physiol. – 2008. – **165**. – P. 697-704.
- John U.P., Polotnianka R.M., Sivakumaran K.A. et al. Ice recrystallisation inhibition proteins (IRIPs) and freeze tolerance in the cryophilic Antarctic hairgrass *Deschampsia antarctica* E. Desv. // Plant Cell Environ. – 2009. – **32**. – P. 336–348.
- Jones L., McQueen-Mason S. A role for expansins in dehydration and rehydration of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* // FEBS Lett. – 2004. – **559**. – P. 61–65.
- Joseleau J-P., Imai T., Kuroda K., Ruel K. Detection in situ and characterization of lignin in the G-layer of tension wood fibres of *Populus deltoides*. // Planta. – 2004. – **219**. – P. 338-345.
- Joseleau J-P., Ruel K. Study of lignification by noninvasive techniques in growing maize internodes. An investigation by Fourier transforms Infrared, CP/MAS ¹³C NMR spectroscopy and immunocytochemical transmission electron microscopy // Plant Physiol. – 1997. – **114**. – P. 1123-1133.
- Kacperska A. Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity? // Physiol. Plant. – 2004. – **122**. – P. 159–168.
- Kang J.S., Franf J., Kang C.H. et al. Salt tolerance of *Arabidopsis thaliana* requires maturation of N-glycosylated proteins in the Golgi apparatus // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2008. – **105**. – P. 5933-5938.
- Kargol M. The graviosmotic hypothesis of water uptake in plants through xylem vessels // Proceedings of COSPAR Sci. Assem. 30th, Hamburg. – 1994. – P. 284.
- Karlet M.T., Kupchik L.A., Veisov B.K. Evaluation of pectin binding of heavy metal ions in aqueous solutions // Chemosphere. – 1999. – **38**. – P. 2591-2596.
- Karlson D., Imai R. Conservation of the Cold Shock Domain Protein Family in Plants // Plant Physiol. – 2003. – **131**. – P. 12-15.
- Kasahara H., Shiwa M., Takeuchi Y., Yamada M. Effects of hypergravity on the elongation growth in radish and cucumber hypocotyls // J. Plant Res. – 1995. – **108**. – P. 59-64.
- Kawakami A., Yoshida M. Molecular characterization on sucrose: sucrose-1- fructosyltransferase and sucrose: fructan 6-fructosyltransferase associated with fructan accumulation in winter wheat during cold hardening // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2002. – **66**. – P. 2297–2305.
- Kauss H. Callose biosynthesis as a Ca²⁺-regulated process and possible relations to the inductions of other metabolic changes // J. Cell Sci. – 1985. – **79**. – P. 89-103.
- Kauss H. Synergistic activation of 1,3-β-D-glucan synthase by Ca²⁺ and polyamines // Plant Sci. – 1986. – **43**. – P. 103–107.
- Kauss H., Jeblick W. Induced Ca²⁺ uptake and callose synthesis in suspension-cultured cells of *Catharanthus*

- roseus* are decreased by the protein phosphatase inhibitor okadaic acid // *Physiol. Plant.* – 1991. – **81**. – P. 309–312.
- Ke W.S., Xiong Z.T., Xie M.G. Accumulation, subcellular localization and ecophysiological responses to copper stress in two *Daucus carota* L. populations // *Plant and Soil.* – 2007. – **292**. – P. 291-304.
- Keen N.T. Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions // *Annu. Rev. Genet.* – 1990. – **24**. – P. 447-463.
- Kende H., van der Knaap E., Cho H.-T. Deepwater rice: A model plant to study stem elongation // *Plant Physiol.* – 1998. – **118**. – P. 1105–1110.
- Kerepesi I., Galiba G. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings // *Crop Sci.* – 2000. – **40**. – P. 482–487.
- Kerstein G. Cuticular water permeability and its physiological significance // *J. Exp. Bot.* – 1996. – **47**. – P. 1813-1832.
- Kevers C., Gaspar T. Soluble, membrane and wall peroxidases, phenylalanine ammonia-lyase, and lignin changes in relation to verification of carnation tissues cultured *in vitro* // *J. Plant Physiol.* – 1985. – **118**. – P. 41-48.
- Khendriks J., Baker B.L. Remnant carbohydrates in carrot tissue // *Biological investigations on Biosatellites «Kosmos»*. Eds. E. Ilijin, G. Parfenov, Moscow: Nauka, 1979. – P. 142-145.
- Kim Myung-Hee, Kentaro Sasaki, Ryoza Imai. RNAs: RNA-Mediated Regulation and Noncoding RNAs: Freezing Tolerance in *Arabidopsis thaliana* Cold Shock Domain Protein 3 Regulates // *J. Biol. Chem.* – 2009. – **284**. – P. 23454-23460.
- Klimchuk D.A., Kordyum E.L., Danevich L.A. et al. Structural and functional organization of regenerated plant protoplasts exposed to microgravity on Biokosmos 9 // *Adv. Space Res.* – 1992. – **12**. – P. 33-40.
- Knight H. Calcium signaling during abiotic stress in plants // *Int. Rev. Cytol.* – 2000. – **195**. – P. 269-324.
- Knight H., Trewavas A.J., Knight M.R. Calcium signalling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity // *Plant J.* – 1997. – **12**. – P. 1067–1078.
- Knox J.P., Linstead P., King J., Cooper C., Roberts K. Pectin esterification is spatially regulated both within cell walls and between developing tissues of root Apices // *Planta.* – 1990. – **181**. – P. 512-521.
- Kobayashi M., Matsu T., Azuma J. Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls // *Plant Physiol.* – 1996. – **110**. – P. 1017– 1020.
- Kochian L.V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1995. – **46**. – P. 237–260.
- Kolattukudy P., Espelie K., Soliday C. Hydrophobic layer attached to cell walls. Cutin, suberin and associated waxes // *Encyclopedia of Plant Physiol.* – 1981. – **13B**. – P. 225-254.
- Kolattukudy P. Biosynthetic pathways of cutin and waxes and their sensitivity to environmental stresses // *Experimental* – 1996. – **47**, Suppl. – P. 50.
- Konno H., Yamasaki Y., Sugimoto M., Takeda K. Differential changes in cell wall matrix polysaccharides and glycoside-hydrolyzing enzymes in developing wheat seedlings differing in drought tolerance // *J. Plant Physiol.* – 2008. – **165**. – P. 745–754.
- Konno H., Nakashima S., Kato K. Metal-tolerant *Scopelophila cataractae* moss accumulates copper in the cell wall pectin of protonemata under copper-enriched conditions // *J. Plant Physiol.* – 2010. – **167**. – 358-364.
- Kopittke P.M., Asher C.J., Blamey F.P. et al. Localization and chemical speciation of Pb in roots of signal grass (*Brachiaria decumbens*) and Rhodes grass (*Chloris gayana*) // *Environ. Sci. Technol.* – 2008. – **42**. – P. 4595-4599.
- Kordyum E.L. Effects of altered gravity on plant cell processes: results of recent space and clinorotation experiments // *Adv. Space Res.* – 1994. – **4**. – P. 77-85.
- Kordyum E.L. Biology of plant cells in microgravity and under clinostating // *Int. Rev. Cytol.* – 1997. – **171**. – P. 1-78.
- Kordyum E.L. Gravisensitivity of plant cells: Experimental data and hypotheses // *J. Gravit. Physiol.* – 2002. – **9**. – P. 219-220.
- Kordyum E.L. Space biology and medicine in Ukraine // *Space Sciences in Ukraine*. NSAU, Kyiv, 2002-2004. – P. 51-58.

- Kordyum E.L., Belyavskaya N., Nedukha E. et al. The role of calcium ions in cytological effects of hypogravity // Adv. Space Res. – 1984. – **4**. – P. 23-26.
- Kordyum E., Klimenko E. Chloroplast ultrastructure and chlorophyll performance in the leaves of heterophyllous *Nuphar lutea* (L.) Smith. Plants // Aquatic Botany. – 2013. – **110**. – P. 84-91.
- Kordyum E.L., Nedukha O.M., Sytnik K.M., Mashinsky A.L. Optical and electron microscopic studies of the *Funaria hygrometrica* protonema after cultivation for 96 days in space // Adv. Space Res. – 1981. – **1**. – P. 159-162.
- Kosma D., Bourdenx B., Bernard A. et al. The impact of water deficiency on leaf cuticle lipids of *Arabidopsis* // Plant Physiol. – 2009. – **151**. – P. 1918-1929.
- Kostiainen K., Kaakinen S., Saranpaa P. et al. Effect of elevated [CO₂] on stem wood properties of mature Norway spruce grown at different soil nutrient availability // Global Change Biol. – 2004. – **10**. – P. 1526-1538.
- Krishnan A., Pereira A. Integrative approaches for mining transcriptional regulatory programs in *Arabidopsis* // Brief Funct. Genomics Proteomics. – 2008. – **7**. – P. 264–274.
- Krzyszowska M. The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role in defense strategy // Acta Physiol. Plant. - 2011. – **33**. – P. 35–51.
- Kubacka-Zebalska M., Kacperska A. Low temperature-induced modifications of cell wall content and polysaccharide composition in leaves of winter oilseed rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera* L.) // Plant Science. – 1999. – **148**. – P. 59–67.
- Kudla J., Xu Q., Harter K. et al. Genes for calcineurin B-like proteins in *Arabidopsis* are differentially regulated by stress signals // Proc Natl Acad Sci U S A. – 1999. – **96**. – P. 4718–4723.
- Kukkola E.M., Koutaniemi S., Gustafsson M. et al. Localization of dibenzodioxocin substructures in lignifying Norway spruce xylem by transmission electron microscopy–immunogold labeling // Planta. – 2003. – **217**. – P. 229–237.
- Kummerow J. Structure of roots and root systems // In: Ecosystems of the World, 11. Eds. diCasteri F., Goodall D., Specht R.L. Mediterranean-type Shrublands. Elsevier Sci. Publ. Company, Amsterdam, 1981. – P. 269–288.
- Kunst L, Samuels L. Plant cuticles shine: advances in wax biosynthesis and export // Curr. Opin. Plant Biol. – 2009. – **12**. – P. 721-727.
- Kusnierczyk A., Winge P., Jwurstad T.S. et al. Towards global understanding of plant defence against aphids—timing and dynamics of early *Arabidopsis* defence responses to cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) attack // Plant Cell Environ. – 2008. – **31**. – P. 1097–1115.
- Kutcher U. The role of epidermis in the control of elongation growth I stems and coleoptiles // Bot. Acta. – 1992. – **105**. – P. 246-252.
- Kutcher U., Briggs W. Rapid auxin-induced stimulation of cell wall synthesis in pea internodes // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1987. – **84**. – P. 2747-2751.
- Lafitte C., Barthe J-P., Gansel X. et al. Differential induction by endopolygalacturonase of β -1,3-glucanases in *Phaseolus vulgaris* isolate susceptible and resistant to *Colletotrichum lindemuthianum* race β . // Mol. Plant Microbe Interact. – 1993. – **6**. – P. 628-634.
- Lai, Y.Z., Funaoka, M. and Chen, H.T. Chemical heterogeneity in woody lignins. In Advances in Lignocellulosics Characterization (ed. D.S. Argyropoulos), TAPPI Press, Atlanta, 1999. – P. 43–53.
- Larcher W., Meindl U., Ralsler E., Ishikawa M. Persistent supercooling and silica deposition in cell walls on palm leaves // J. Plant Physiol. – 1991. – **139**. – P. 146–154.
- Lardizabal K.D., Metz J.G., Sakamoto T., et al. Purification of a jjoba embryo wax synthase, cloning of its cDNA, and production of high levels of wax in seeds of transgenic *Arabidopsis* // Plant Physiol. – 2000. – **122**. – P. 645–656.
- Lattanzio V., Lattanzio V.M.T., Cardinali A. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects // In : Phytochemistry: Adv. Reseach. Ed. Imperato F. Research Signpost, Kerala, Fort P.O., India. – 2006. – P. 23-67.
- Lautner S., Ehrling B., Windeisen E. et al. Calcium nutrient has as significant influence on wood formation in poplar // New Phytol. – 2007. – **173**. – P. 743-752.

- Le Van H, Kuraishi S, Sakurai N Aluminium-induced rapid root inhibition and changes in cell-wall components of squash seedlings // *Plant Physiol.* – 1994. – **106**. – P. 971–976.
- Leach J., Ryba-White M., Sun Q., Nedukha O., Kordyum E. Plants, plant pathogens, and microgravity—a deadly trio // *Gravitational and Space Biology Bulletin.* – 2001. – **14**. – P.15-23.
- Legendre L., Rueter S., Heinstejn P.F., Low P.S. Characterization of the oligogalacturonide-induced oxidative burst in cultured soybean (*Glycine max*) cells // *Plant Physiol.* – 1993. – **102**. – P. 233-240.
- Legge R., Brown R.M. Modification of protoplasts cell wall regeneration by membrane perturbation // *Protoplasma.* – 1988. – **105**. – P. 129-133.
- Leisola M., Pastinen O., Axe D.D. Lignin—Designed // *Bio-complexity.org.* – 2012. – Issue **3**. – P. 1-11.
- Leucci M., Lenucci M., Piro G., Dalessandro G. Water stress and cell wall polysaccharides in the apical root zone of wheat cultivars varying in drought tolerance // *J. Plant Physiol.* – 2008. – **165**. – P. 1168—1180.
- Levitt, J. Responses of plants to environmental stresses: Chilling, freezing and high temperature stresses. New York; Academic Press, 1980, vol. 1.
- Levy S. Two separate zones of helicoidally oriented microfibrils are present in the walls of *Nitella* internodes during growth // *Protoplasma.* – 1991. – **163**. – P. 145-155.
- Li A.-F., Yang A.-F., Zhang X.-C. et al. Improving freezing tolerance on transgenic tobacco expressing sucrose: sucrose1-fructosyltransferase gene from *Lactuca sativa* // *Plant Cell Tissue Organ Cult.* – 2007. – **89**. – P. 37–48.
- Li X., Weng J.K., Chapple C. Improvement of biomass through lignin modification // *Plant J.* – 2008. – **54**. – P. 569–581.
- Li W., Zhao Y., Liu C. et al. Callose deposition at plasmodesmata is a critical factor in restricting the cell-to-cell movement of Soybean mosaic virus // *Plant Cell Rep.* – 2012. – **31**. – P. 905–916.
- Lin C.C., Kao C.H. Cell wall peroxidase against ferulic acid, lignin, and NaCl-induced root growth of rice seedlings // *J. Plant Physiol.* – 2001. – **158**. – P. 667-671.
- Little S.T. Adaptation and acclimation of populations of *Ludwigia repens* to growth in high- and lower CO₂ springs // A Dissertation presented to the graduate school of the University of Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of philosophy. Univ. Florida. USA, 2003. – P. 1-157.
- Liu D., Kottke I., Adam D. Localization of cadmium in the root cells of *Allium cepa* by energy dispersive X-ray analysis // *Biol. Plantarum.* – 2007. – **51**. – P. 363-366.
- Liu H.Y., Liao B.H., Lu S.Q. Toxicity of surfactant, acid rain and Cd₂ combined pollution to the nucleus of *Vicia faba* root tip cells // *Chin. J. App. Ecol.* – 2004. – **15**. – P. 493–496.
- Livingston D., Hinch D., Heyer A. Fructan an dits relation ship to abiotic stress tolerance in plants // *Cell.Mol. Life Sci.* – 2009. – **66**. – P. 2007–2023.
- Madsen T.V., Maberty S.C. Diurnal variation in light and carbon limitation of photosynthesis by two species of submerged freshwater macrophytes with a differential ability to use bicarbonate // *Freshwater Biol.* – 1991. – **26**. – P. 175–187.
- Mahajan S., Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: An overview // *Archives of Biochem. Biophys.* – 2005. – **444**. – P. 139–158.
- Martin J.A., Solla A., Woodward S., Gil L. Detection of differential changes in lignin composition of xylem tissues inoculated with *Ophiostoma novo-ulmi* using fourier transform-infrared spectroscopy // *Forest Pathology.* – 2007. – **37**. – P. 187-191.
- Mathews M., Volkenburgh E., Boyer J. Acclimation of leaf growth to low water potentials in sunflower // *Plant Cell Environ.* – 1984. – **7**. – P. 199–206.
- Mathieu Y., Kurkdjian A., Xia H. et al. Membrane responses induced by oligogalacturonides in suspension-cultured tobacco cells // *The Plant Journal.* – 1991. – **1**. – P. 333–343.
- McDougall G.J. A comparison of proteins from the developing xylem of compression and non-compression wood of branches of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) reveals a differentially expressed laccase // *J. Exp. Bot.* – 2000. – **51**. – P. 1767-1767
- McQueen-Mason S., Durachko D.M., Cosgrove D.J. Two endogenous proteins that induce cell wall extension in plants // *Plant Cell.* – 1992. – **4**. – P. 1425–1433.

- McQueen-Mason S., Cosgrove D.J. Expansin mode of action on cell walls. Analysis of wall hydrolysis, stress relaxation, and binding // *Plant. Physiol.* – 1995. – **107**. – P. 87–100.
- McNair R.B. Phloem translocation and heat-induced callose formation in field-grown *Gossypium hirsutum* L. // *Plant Physiol.* – 1972. – **50**. – P. 366–370.
- Menden B., Kohlhoff M., Moerschbacher B.M. Wheat cell accumulate a syringil-rich lignin during the hypersensitive resistance response // *Phytochemistry.* – 2007. – **68**. – P. 513–529.
- Meyer K., Shirley A.M., Cusumano J.C. et al. Lignin monomer composition is determined by the expression of a cytochrome P450-dependent monooxygenase in *Arabidopsis* // *Proc. Nat. Acad. Sci., USA.* – 1998. – **95**. – P. 6619–6623.
- Middleton A.J., Brown A.M., Davies P.L., Walker V.K. Identification on the ice-binding face on a plant antifreeze protein // *FEBS Lett.* – 2009. – **583**. – P. 815–819.
- Miura K., Furumoto T. Cold Signaling and Cold Response in Plants // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – **14**. – P. 5312–5337.
- Mommer L., de Kroon H., Pierik R., Bogemann G. A functional comparison of acclimation to shade and submergence in two terrestrial plant species // *New Phytol.* – 2005. – **167**. – P. 197–206.
- Mommer L., Lenssen J.P.M., Huber H. et al. Ecophysiological determinants of plant performance under flooding: a comparative study among seven plant families // *J. Ecol.* – 2006, a. – **94**. – P. 1117–1129.
- Mommer L., Pons T.L., Visser E.J.W. Photosynthetic consequences of phenotypic plasticity in response to submergence: *Rumex palustris* as a case study // *J. Exp. Bot.* – 2006, b. – **57**. – P. 283–290.
- Mommer L., Pederson O., Visser E.J.W. Acclimation of a terrestrial plant to submergence facilitates gas exchange under water // *Plant cell and Environ.* – 2004. – **27**. – P. 1281–1287.
- Mommer L., Pons T.L., Wolkers-Arts M. et al. Submergence-induced morphological, anatomical, and biochemical responses in a terrestrial species affects gas diffusion resistance and photosynthetic performance // *Plant Physiol.* – 2005. – **139**. – P. 497–508.
- Mommer L., Visser E.J.W. Underwater photosynthesis in flooded terrestrial plants: a matter of leaf plasticity // *Ann. of Bot.* – 2005. – **96**. – P. 581–589.
- Mommer L., Wolters-Arts M., Andersen Ch. et al. Submergence-induced leaf acclimation in terrestrial species varying in flooding tolerance // *New Phytol.* – 2007. – **176**. – P. 337–345.
- Monneveux P., Belhassen E. The diversity of drought adaptation in the wide // *Plant Growth Regul.* – 1996. – **20**. – P. 85–92.
- Montesano M., Brader G., Palva E.T. Pathogen derived elicitors: searching for receptors in plants // *Mol Plant Pathol.* – 2003. – 4. – P. 73–79.
- Monties B. Lignins // In: *Methods in plant biochemistry.* Ed. Harborne J.B. Acad. Press, London. – 1989. – Vol. 1. – P. 113–157.
- Moor J.P., Vicer-Gibouin M., Farrant J.M., Driouich A. Adaptations of higher plant cell walls to water loss: drought vs desiccation // *Physiol Plant.* – 2008. – **134**. – P. 237–245.
- Moore R. The influence of microgravity of the structure of meristematic cells in apices of roots and shoots of *Zea mays* // *Plant Physiol.* – *Plant Physiol.* – 1988. – **86**. – P. 66.
- Morrison J., Greve L.C., Richard P.A. Cell wall synthesis during growth and maturation of *Nitella* internodes cells // *Planta.* – 1993. – **189**. – P. 321–328.
- Mostajeran A., Rahimi-Eichi V. Drought stress effects on root anatomical characteristics of rice cultivars (*Oryza sativa* L.) // *Pakistan J. Biol. Sci.* – 2008. – **11**. – P. 2173–2183.
- Moura J.C., Bonine C.A., Viana J. et al. Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants // *JIPB (J. Integrative Plant Biology).* – 2010. – **52**. – P. 360–376.
- Muller B., Bourdais G., Reidy B. et al. Association of specific expansins with growth in maize leaves is maintained under environmental, genetic, and developmental sources of variation // *Plant Physiol.* – 2007. – **143**. – P. 278–290.
- Munoz F.J., Dopico B., Labrador E. Effect of osmotic stress on the growth of epicotyl of *Cicer arietinum* in relation to changes in cell wall composition // *Physiol. Plant.* – 1993. – **87**. – P. 552–560.
- Murata N., Los D.A. Membrane fluidity and temperature perception // *Plant Physiol.* – 1997. – **115**. – P. 875–879.
- Nakabayashi Izumi, Karahara I., Tomaoki D. et al. Hypergravity stimulus enhances primary xylem development

- and decreases mechanical properties of secondary cell walls in inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana* // Ann. Bot. – 2006. – **97**. – P. 1083-1090.
- Nakashima J., Laosinchai W., Cui X., Brown R.M. New insight into the mechanism of cellulose and callose biosynthesis: proteases may regulate callose biosynthesis upon wounding // Cellulose. – 2003. – **10**. – P. 369–389.
- Nedukha O.M. Long clinorotation influence on the ultrastructure of *Funaria hygrometrica* moss protonema // Adv. Space Res. – 1984. – **4**. – P. 19-22.
- Nedukha O.M. Long clinostation sinfluence on the localization of free and weakly bound calcium in cell wall of *Funaria hygrometrica* moss protonema cells // Adv. Space Res. – 1989. – **9**. – P. 83-86.
- Nedukha O.M. The role of cellulases in the mechanism of changes of cell walls of *Funaria hygrometrica* moss protonema at clinostating // Adv. Space Res. – 1992. – **12**. – P. 99-102.
- Nedukha O.M. Effects of microgravity on the structure of leaves cells involved in water transport // J. Gravit. Physiol. – 1995, a. – **2**. – P. 163-164.
- Nedukha O.M. Possible mechanisms of plant cell wall changes at microgravity // Adv. Space Res. – 1995, b. – **17**. – P. 37-45.
- Nedukha O.M. Effects of microgravity on the structure and function of plant cell wall // Int. Rev. Cytol. - 1997. – **170**. – P. 39-77.
- Nedukha O. Cellulose content in cell walls of *Sium latifolium* L. leaves under influence of moderate water deficit // Adv. of Agricult. Sci. Problem issues. – 2008. – **524**. – P.173-187.
- Nedukha O.M. Epidermis leaf structural responses of some aquatic plants to constant water environment // Adv. of Agricultural Sci. Problem Issue. – 2010, a. – **545**. – P.169–178.
- Nedukha O.M. Effect of moderate water deficit on calcium ions distributions in leaf cells of *Sium latifolium*. // Adv. of Agricultural Sci. Problem Issues. – 2010, b. – **545**. – P. 179–190.
- Nedukha O.M. Anatomical, ultrastructural and biochemical signs of *Trapa natans* leaves adaptation to submergence in natural water habits // In: Plant functions under environmental stress. Eds. Grzesiak M.C., Rzepka A., Hura T., and Grzesiak S. Cracow, Poland, Publ.: The F. Gorski Institute of Plant Physiology, Polish Acad. Sci. – 2013. - P. 123-135.
- Nedukha O.M., Kordyum E.L. The participation of cell wall polysaccharides in cellular mechanisms of leaf tolerance to nature flooding of plants // In: Plant functions under environmental stress. Eds. Grzesiak M.C., Rzepka A., Hura T., and Grzesiak S. Cracow, Poland, Publ.: The F. Gorski Institute of Plant Physiology, Polish Acad. Sci. – 2013. - P. 137-152.
- Nedukha O., Leach J., Kordyum E. et al. Root meristem ultrastructure of soybean seedlings infected with a pathogenic fungus in microgravity // J. Grav. Physiol. – 1999. – **6**. – P. 125-126.
- Nedukha O.M., Mashinskiy A.L. 16 Days influence of microgravity on the ultrastructure *Triticum durum* L. leaves cells // Proc. COSPAR, Washington, D.C., 29th. – 1992. – P. 528.
- Nesar Uddin. Effect of salinity in the first phase of salt stress on leaf cell-wall components of maize with special reference to cell-wall extensibility // A Thesis submitted for the requirement of the doctor degree in Agriculture from Faculty of Agricultural Sci., Nutritional Sci. and Environmental Management Justus Leibig University Giessen. VVB Lauferweler, Verlag, Germany. – 2012. – 118 p.
- Neumann P. The role of cell wall adjustment in plant resistance to water deficits // Crop Sci. – 1995. – **35**. – P. 1258–1266.
- Neumann P., Azaize H., Leon D. Hardening of root cell walls: a growth inhibitory response to salinity stress // Plant, Cell and Environment. – 1994. – **17**. – P. 303–309.
- Neville A., Levy S. Helicoidal orientation of cellulose microfibrils of *Nitella opaca* internode cells: ultrastructure and computed theoretical effects of strain reorientation during wall growth // Planta. – 1984. – **162**. – P. 370-384.
- Nevins D.J., Huber J., Yamamoto R., Loescher W. Beta-D-glucan of *Avena* coleoptile cell walls // Plant Physiol. – 1977. – **60**. – P. 617-621.
- Nicholson R.L., Hammerschmidt R. Phenolic compounds and their role in disease resistance // Ann. Rev. Phytopath. – 1992. – **30**. – P. 369– 389.
- Nickel R., Schutte M., Hecker D., Scherer G.F. The phospholipid platelet-activating factor stimulates proton

- extrusion in cultured soybean cells and protein phosphorylation and ATPase activity in plasma membranes // *Plant Physiol.* – 1991. – **139**. – P. 205–211.
- Niklas K.J. *Plant Biomechanics: An Engineering approach to Plant Form and Function.* Univ.of Chicago Press Amazon.com., 1992. – 622 p.
- Nilsson Martin. Water-induced charge transport in microcrystalline cellulose // *Acta Universitatis Upsaliensis.* Uppsalla. 2006. – 170. – P. 1-54.
- Nishawar J., Mahboobul-Hussain, Khurshid I.A. Cold resistance in plants: A mystery unresolved // *Electronic J. of Biotechnology* ISSN: 0717-3458. – 2009. – **12**. – P. 1-15.
- Nishiuchi Shunsaku, Yamauchi T., Takahashi H. et al. Mechanisms for coping with submergence and waterlogging in rice // *Rice.* – 2012. – **5**. – P. 2-14.
- Niu X., Bressan R.A., Hasegawa P.M., Pardo J.M. Ion homeostasis in NaCl stress environments // *Plant Physiol.* – 1995. – **109**. – P. 735–742.
- North G.B., Nobel P.S. Radial hydraulic conductivity of individual root tissues of *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller as soil moisture varies // *Ann. Bot.* – 1996. – **77**. – P. 133–142.
- Numberger T., Brunner F., Kemmerling B., Piater L. Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences // *Immunol. Rev.* – 2004. – **198**. – P. 249-266.
- Nyquist J., Greger M. Uptake of Zn, Cu, and Cd in metal loaded *Elodea canadensis* // *Environ. Exp. Bot.* – 2007. – **60**. – P. 219–226.
- Olenichenko N., Zagoskina N. Response of winter wheat to cold: production of phenolic compounds and l-phenylalanine ammonia lyase activity // *Applied Biochem. Microbiol.* – 2005. – **41**. – P. 600-603.
- Olson P.D., Varner J.E. Hydrogen peroxide and lignification // *Plant Cell.* – 1993. – **4**. – P. 887–892.
- O'Neill M.A., Ishii T., Albersheim P., Darvil A.G. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2004. – **55**. – P. 109–139.
- Osakabe Y., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., Tran L. Sensing the environment: key roles of membrane localized kinases in plant perception and response to abiotic stress // *J. Exp. Bot.* – 2013. – **64**. – P. 445–458.
- Owen J.H., Napier J.A. Abscisic acid: new ideas on its role and mode of action // *Plants Today.* – 1988. – **1**. – P. 55-59.
- Palta J.P. Stress Interactions at the Cellular and Membrane Levels // *Hortscience.* – 1990. – **25**. – P. 1377-1381.
- Panda D., Sarkar R.K. Structural carbohydrates and lignifications associated with submergence tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) // *J. Stress Physiol. and Biochem.* – 2013. – **9**. – P. 299–306.
- Parida K. A., Das A. B. Salt tolerance and salinity effects on plant: a review // *Ecotox. Environ. Safe.* – 2005. – **60**. – P. 324–349.
- Parre E., Geitmann A. More than a leak sealant. The mechanical properties of callose in pollen tubes // *Plant Physiol.* – 2005. – **137**. – P. 274–286.
- Parvanova D., Popova A., Zaharieva I. et al. Low temperature tolerance on tobacco plants transformed to accumulate proline, fructans, on glycine betaine. Variable chlorophyll fluorescence evidence // *Photosynthetica.* – 2004. – **42**. – P. 179–185.
- Paux E., Carocha V., Marques C. et al. Transcript profiling of Eucalyptus xylem genes during tension wood formation // *New Phytologist.* – 2005. – **167**. – P. 89-100.
- Pearce R.S. Extracellular ice and cell shape in frost-stressed cereal leaves: a low-temperature scanning-electron-microscopy study // *Planta.* – 1988. – **175**. – P. 313-324.
- Pearce R.S., Ashworth E.N. Cell shape and localization of ice in leaves of overwintering wheat during frost stress in the field // *Planta.* – 1992. – **188**. – P. 324-331.
- Peca-Valdivia C.B., Sónchez-Urdaneta A.B., Meza Rangel J. et al. Anatomical root variations in response to water deficit: wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) // *Biol. Res.* – 2010. – **43**. – P. 417–427.
- Philip L., Lyengar L., Venkobachar C. Site interaction of copper on *Bacillus polymyxa* // *Water, Air, Soil Pollut.* – 2000. – **119**. – P. 11-21.
- Phillips W.S. Depth of roots in soil // *Ecology.* – 1963. – **44**. – P. 424.

- Pillonel Ch., Meier N.* Influence of external factors on callose and cellulose synthesis during incubation *in vitro* of intact cotton fibres with ^{14}C sucrose // *Planta*. – 1985. – **165**. – P.76-84.
- Plomion C., Pionneau C., Brach J. et al.* Compression wood responsive proteins in developing xylem of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) // *Plant Physiol.* – 2000. – **123**. – P. 959-969.
- Pokorna J., Pillonel Ch., Meier N.* Influence of external factors on callose and cellulose synthesis during incubation *in vitro* of intact cotton fibres with ^{14}C sucrose // *Planta*. – 1985. – **165**. – P.76-84.
- Pokorna J., Schwarzerova K., Zelenkova S. et al.* Sites of actin initiation and reorganization in cold-treated tobacco cells // *Plant Cell Environ.* – 2004. – **27**. – P. 641-653.
- Pollock C.J., Jones T.* Seasonal patterns of fructan metabolism in forage grasses // *New Phytol.* – 1979. – **83**. – P. 9-15.
- Prattikakis E., Rhizopoulou S., Psaras G.* A phylayer in roots of *Ceratonia siliqua* // *Bot. Acta*. – 1998. – **111**. – P. 93-98.
- Price A.H., Cairns J.E., Horton P. et al.* Linking drought-resistance mechanisms to drought avoidance in upland rice using a QTL approach: progress and new opportunities to integrate stomatal and mesophyll responses // *J. Exp. Bot.* – 2002. – **53**. – P. 989-1004.
- Provost Le G., Domergue F., Lalanne G. et al.* Soil water stress affects both cuticular wax content and cuticle-related gene expression in young saplings of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait) // *BMC Plant Biol.* – 2013. – **13**. – (doi:10.1186/1471-2229-13-95).
- Rajashekar C.B., Burke M.J.* Liquid water during slow freezing based on cell water relations and limited experimental testing // *In: Plant Cold Hardiness and Freezing Stress*. Eds, Li P.H., Sakai A. Acad. Press, New York, 1982. – Vol. **11**. – P. 211-220.
- Rajashekar C., Lafta A.* Cell-Wall Changes and Cell Tension in Response to Cold Acclimation and Exogenous Abscisic Acid in Leaves and Cell Cultures // *Plant Physiol.* – 1996. – **111**. – P. 605-612.
- Ranathunge Kosala, Lin J., Steudle E., Schreiber L.* Stagnant deoxygenated growth enhances root suberization and lignifications, but differentially affects water and NaCl permeabilities in rice (*Oryza sativa* L.) roots // *Plant, Cell and Environm.* – 2011. – **34**. – P. 1223-1240.
- Rascio N., Cuccato F., Dalla Vecchia F. et al.* Structural and functional features of the leaves of *Ranunculus trichophyllus* Chaix., a freshwater submerged macrophyte // *Plant Cell and Environ.* – 1999. – **22**. – P. 205-212.
- Raskin I., Kende H.* Role of gibberellin in the growth-response on submerged deep-water rice // *Plant Physiol.* – 1984. – **76**. – P. 947-950.
- Rasmussen O., Klimchuk D., Kordyum E. et al.* The effect of exposure to microgravity on the development and structural organization of plant protoplasts flow on Biokosmos // *Physiol. Plant* – 1992. – **84**. – P. 162-170.
- Rastogi S., Dwivedi U.* Manipulation of lignin in plants with special reference to O-methyltransferase // *Plant Science*. – 2008. – **174**. – P. 264-277.
- Rayle DL, Cleland R.E.* The acid growth theory of auxin-induced cell elongation // *Plant Physiol.* – 1992. – **99**. – P. 1271-1274.
- Reena Singh, Gautam N., Mishra A., Gupta R.* Heavy metals and living systems: An overview // *Indian J. of Pharmacol.* – 2011. – **43**. – P. 246-253.
- Reid R.J., Hayes J.E., Post A., Stangoulis J.C.R., Graham R.D.* A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants // *Plant Cell and Environ.* – 2004. – **25**. – P. 1405-1414.
- Reinhardt D.H., Rost T.L.* Salinity accelerates endodermal development and induces an exodermis in cotton seedling roots // *Env. And Exp. Botany*. – 1995. – **35**. – P. 563-574.
- Reisert P.S.* Plant cell surface structure and recognition phenomena with reference to symbioses // *Int. Rev. Cytol* – 1981. – Suppl. N 12. – P. 71-109.
- Rentschler I.* Die wasser benetzbarkeit von Blattoberflächen und ihre submicroscopische Wachsstruktur // *Planta*. – 1971. – **96**. – P. 119-135.
- Ress E., Sternberg E.* From cells to Atoms. Moscow: Mir, 1988.
- Ricardo A., Carrigan M.A., Olcott A.N., Benner S.A.* Borate minerals stabilize ribose // *Science*. – 2004.

– 303. – P. 196.

- Richmond T., Somerville C. The cellulose synthase superfamily // *Plant Physiol.* – 2000. – **124.** – P. 495-498.
- Riederer M., Schreiber L. Waxes: the transport barriers of plant cuticles // In: *Waxes: chemistry, molecular biology and functions.* Ed. Hamilton R.J. Dundee: The Oily Press, 1995. – P. 131–156.
- Riederer M., Schreiber L. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles // *J. Exp. Bot.* – 2001. – **52.** – P. 2023–2032.
- Rijnnders J.G.H.M., Armstrong W., Darwen M.J. et al. The role of oxygen in submergence-induced petiole elongation in *Rumex palustris*: in situ measurements of oxygen in petioles of intact plants using micro-electrodes // *New Phytologist.* – 2000. – **147.** – P. 479–504.
- Rijnnders J.G.H.M., Yang Y.Y., Kamiya Y. et al. Ethylene enhances gibberellin levels and petiole sensitivity in flooding-tolerant *Rumex palustris* but not in flooding-intolerant *R. acetosa* // *Planta.* – 1997. – **20.** – P. 320–325.
- Robertson B. Endopolygalacturonase from *Cladosporium cucumerinum* elicits lignification in cucumber hypocotyls // *Physiol Mol. Plant Pathol.* – 1987. – **31.** – P. 361-374.
- Robson A., Hartley R., Jarvis S. Effect of copper deficiency on phenolic and other constituents of wheat cell walls // *New Phytol.* – 1981. – **89.** – P. 361-371.
- Roitsch T., Balibrea M.E., Hofmann M. et al. Extracellular invertase: key metabolic enzyme and RP protein // *J. Exp. Bot.* – 2003. – **54.** – P. 513-524.
- Roland J.C., Vian B. The wall of the growing cell: its three dimension organization // *Int. Rev. Cytol.* – 1979. – **61.** – P. 129-166.
- Romani G., Bonza M.C., Filippini I. et al. Involvement of the plasma membrane Ca²⁺-ATPase in the shortterm response of *Arabidopsis thaliana* cultured cells to oligogalacturonides // *Plant Biol. (Stuttg).* – 2004. – **6.** – P. 192-200.
- Rose-John S., Kende H. Short-term growth response of deep-water rice to submergence and ethylene // *Plant Sci.* – 1985. – **38.** – P. 129–134.
- Routaboul J.-M., Fischer S.F., Broese I. Trienoic fatty acids are required to maintain chloroplast function at low temperatures // *Plant Physiol.* – 2000. – **124.** – P. 1697-1705.
- Roux S.J., Slocum R.D. Role of calcium in mediating cellular functions important for growth and development in higher plants // In: *Calcium and Cell Function.* Ed. W.Chevng. N.Y.: Acad. Press. – 1982. – **2.** – P. 409-453.
- Ruelland E., Cantrel C., Gawer M. et al. Activation of phospholipases C and D is an early response to a cold exposure in *Arabidopsis* suspension cells // *Plant Physiol.* – 2002. – **130.** – P. 999–1007.
- Rushinng J.W., Huber D. Effects of NaCl, pH and Ca²⁺ on autolysis of isolated tomato fruit cell walls // *Physiol. Plant.* – 1987. – **70.** – P. 78-84.
- Ryba-White M., Nedukha O., Hilaire E. et al. Growth in microgravity increases susceptibility of soybean to fungal pathogen // *Plant Cell Physiol.* – 2001. – **42.** – P. 657-664.
- Saheed S.A., Botha C.E.J., Liu L., Jonsson L. Comparison of structural damage caused by Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) and Bird cherry-oat aphid (*Rhopalosiphum padi*) in a susceptible barley cultivar, *Hordeum vulgare* cv. Clipper. // *Physiol. Plant.* – 2007. – **129.** – P. 429– 435.
- Samardakiewicz S., Strawinski P., Wozny A. The influence of lead on callose formation in roots of *Lemna minor* L. // *Biol. Lant.* – 1996. – **38.** – P. 463-467.
- Sampedro J., Cosgrove D.J. The expansin superfamily // *Genome Biol.* – 2005. – **6.** – Article 242.
- Sand-Jensen K., Pedersen M.F., Nielsen S.L. Photosynthetic use of inorganic carbon among primary and secondary water plants in streams // *Freshwater Biol.* – 1992. – **27.** – P. 283–293.
- Sanders D., Brownlee C., Harper J.F. Communication with calcium // *Plant Cell.* – 1999. – **11.** – P. 691–706.
- Sandvea S., Rudi H., Asp T., Rognli O. Tracking the evolution of a cold stress associated gene family in cold tolerant grasses // *BMC Evol. Biol.* – 2008. – **8.** – P. 245.
- Sandvea S.R., Kosmalab A., Rudia H. et al. Molecular mechanisms underlying frost tolerance in perennial grasses adapted to cold climates // *Plant Science.* – 2011. – **180.** – P. 69–77.

- Sangwan V., Foulds I., Singh J., Fhindsa R. Cold-activation of *Brassica napus* BN115 promoter is mediated by structural changes in membranes and cytoskeleton, and requires Ca²⁺ influx // Plant J. – 2001. – **27**. – P. 1–12.
- Sasayama D., Azuma T., Itoh K. Changes in expansin activity and cell wall susceptibility to expansin action during cessation of internodal elongation in floating rice // Plant Growth Reg. – 2009. – **57**. – P. 9–88.
- Sasidharan R., Voesehek L.A., Pierik R. Cell wall modifying proteins mediate plant acclimatization to biotic and abiotic stresses // Critical Rev. in Plant Sci. – 2011. – **30**. – P. 548–562.
- Saulnier L., Crépeau M.-J., Lahaye M. et al. Isolation and structural determination of two 5,5'-diferuloyl oligosaccharides indicate that maize heteroxylans are covalently cross-linked by oxidatively coupled ferulates // Carb. Res. – 1999. – **320**. – P. 82–92.
- Schmohl N., Pilling J., Fisahn J., Horst W.J. Pectin methylesterase modulates aluminium sensitivity in *Zea mays* and *Solanum tuberosum* // Physiol Plant. – 2000. – **109**. – P. 419–427.
- Schonher J. Water permeability of isolated cuticular membranes: the effect of cuticular waxes on diffusion of water // Planta. – 1976. – **131**. – P. 159–164.
- Schreber L., Riederer M. Ecophysiology and cuticular transpiration: comparative investigation of cuticular water permeability of plant species from different habitats // Oecologia. – 1996. – **107**. – P. 426–432.
- Schönherr J. Resistance of plant surfaces to water loss: transport properties of cutin, suberin and associated lipids // In: Lange O., Nobel P., Osmond C., et al., eds. Physiol. Plant Ecology. II. Encyclopedia of Plant Physiol. Heidelberg: Springer. 1982. – **2 B**. – P. 153–179.
- Schönherr J. Characterization of aqueous pores in plant cuticles and permeation of ionic solutes // J. Exp. Bot. – 2006. – **57**. – P. 2471–2491.
- Schopper Ch., Hepler P. Distribution of membranes and the cytoskeleton during cell plate formation in pollen mother cells of *Tradescantia* // J. Cell Sci. – 1991. – **100**. – P. 717–728.
- Schutzendubel A., Schwanz P., Teichmann T. et al. Cadmium-induced changes in antioxidative systems. H₂O₂ content and differentiation in Pine (*Pinus sylvestris*) roots // Plant Physiol. – 2001. – **127**. – P. 887–892.
- Schwarzerova K., Zelenkova S., Petrasek J., Janotova I. Sites of actin filament initiation and reorganization in cold-treated tobacco cells // Plant Cell Environ. – 2004. – **27**. – P. 641–653.
- Shannon M.C., Griere C.M., Francois L.E. Whole plant response to salinity // Plant–Environment Interactions. Ed. Wilkinson, R.E. Marcel Decker, New York, 1994. – P. 199–244.
- Shao H.B., Chu L.Y., Jaleel C.A., Zhao C.X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants // Comptes Rendus Biologies. – 2008. – **54**. – P. 215–225.
- Shimazaki K., Kinoshita T., Nishimura M. Involvement of calmodulin and calmodulin-independent myosin light chain kinase in blue light-dependent H⁺ pumping by guard cell protoplasts from *Vicia faba* L. // Plant Physiol. – 1992. – **99**. – P. 1416–1421.
- Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways, Curr. Opin. Plant Biol. – 2000. – **3**. – P. 217–223.
- Shhopfer P. Hydrogen peroxide-mediated cell wall stiffening *in vitro* in maize coleoptiles // Planta. – 1996. – **199**. – P. 43–49.
- Showalter A. M. Structure and function of plant cell wall proteins. // Plant Cell. – 1993. – **5**. – P. 9–23.
- Sidebottom C., Buckley S., Pudney P. et al. Phytochemistry: heat-stable antifreeze protein from grass // Nature. – 2000. – **406**. – P. 256.
- Siegel S.M. Gravity as a biochemical determination // Life Sci. Space Res. – 1979. – **17**. – P. 147–160.
- Siegel S.M., Carrol P., Umeno J., Corn C. The evolution of lignin: experiments and observations // Recent Adv. Phytochem. – 1972. – **4**. – P. 223–238.
- Sing R., Mishra N., Gupta R. Heavy metals and living systems: an overview // Indian. J. of Pharmacology. – 2011. – **43**. – P. 246–253.
- Sivaguru M., Fujiwara T., Samaj J. et al. Aluminium-induced 1-3-β-D-glucan inhibits cell-to-cell trafficking of molecules through plasmodesmata. A new mechanism of aluminium toxicity in plants. // Plant Physiol. – 2000. – **124**. – P. 991–1005.
- Skiryca A., De Bodt S., Obata T., De Clercq I., et al. Developmental stage specificity and the role of mitochondrial

- metabolism in the response of *Arabidopsis* leaves to prolonged mild osmotic Stress // *Plant Physiol.* – 2010. – **152**. – P. 226–244.
- Soares J.D., Pasqual M., de Araujo M.A. et al. Leaf anatomy of orchids micropropagated with different silicon concentrations // *Acta Scientiarum.* – 2012. – **34**. – P. 413-421.
- Soga K., Wakabayashi K., Kamisaka S., Hoson T. Stimulation of elongation growth and xyloglucan breakdown in *Arabidopsis* hypocotyls under microgravity conditions in space // *Planta.* – 2002. – **215**. – P. 1040-1046.
- Soga K., Wakabayashi K., Kamisaka S., Hoson T. Effects of hypergravity on expression of XTH genes in azuki bean epicotyls. // *Physiol Plant.* – 2007. – **131**. – P. 332-340.
- Solecka D., Kacperska A. Phenylalanine ammonia-lyase activity in leaves of winter oilseed rape plants as affected by acclimation of plants to low temperature. // *Plant Physiol. Biochem.* – 1995. – **33**. – P. 585-591.
- Solecka D., Zebrowski J., Kacperska A. Are pectins involved in cold acclimation and deacclimation of winter oil-seed rape plants? // *Ann. Bot.* – 2008. – **101**. – P. 521–530.
- Somerville C., Browse J. Plant lipids, metabolism and membranes. // *Science.* – 1991. – **252**. – P. 80–87.
- Spadoni S. The role of pectins in the regulation of plant defence responses against pathogens // *Doctorato di Ricerca in Sci. Botaniche XVIII Ciclo Anno Accademico.* 2005. – 65 p.
- Stass A., Horst W. Effect of aluminum on membrane properties of soybean (*Glycine max*) cell in suspension culture // *Plant Soil.* – 1995. – **171**. – P. 113-118
- Stennis M.J., Chandra S., Ryan C.A., Low P.S. Systemin potentiates the oxidative burst in cultured tomato cells // *Plant Physiol.* – 1998. – **117**. – P. 1031-1036.
- Steponkus P.L., Uemura M., Webb M.S. A contrast of the cryostability of the plasma membrane of winter rye and spring oat-two species that widely differ in their freezing tolerance and plasma membrane lipid composition // In: *Advances in Low-Temperature Biology.* Ed. Steponkus P.L. London: JAI Press, 1993, a. – Vol. **2**. – P. 211-312.
- Steponkus P.L., Uemura M., Webb M.S. Membrane destabilization during freeze-induced dehydration // *Current Topics Plant Physiol.* – 1993, b. – **10**. – P. 37-47.
- Storey K.B., Storey J.M. Freeze tolerance // *Extremophiles*. In: *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO.* Eds. Gerday C., Jansdorff N., Oxford, UK: Eolss Publishers, 2005. – P. 1-25.
- Striker G.G.P., Insausti P., Grimoldi A.A., Vega A.S. Trade-off between root porosity and mechanical strength in species with different types of aerenchyma // *Plant, Cell Environ.* – 2007. – **30**. – P. 580–589.
- Suarez-Rodriguez M.C., Petersen M., Mundy J. Mitogen-activated protein kinase signalling in plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2010. – **61**. – P. 621-649.
- Suzuki N., Mittler R. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction // *Physiol. Plantarum.* – 2006. – **126**. – P. 45-51.
- Svenningsson M. Epi- and intracuticular lipids and cuticular transpiration rates of primary leaves of eight barley (*Hordeum vulgare*) cultivars // *Physiol. Plant.* – 1988. – **73**. – P. 512-517.
- Tahara K., Norisada M., Hogetsu T., Kojima K. Aluminum tolerance and aluminum-induced deposition of callose and lignin in the root tips of *Melaleuca* and *Eucalyptus* species // *J. Forest Res.* – 2005. – **10**. – P. 325-33.
- Tähtiharju S. The Role of Calcium and Protein Phosphatases in Cold Signal Transduction in *Arabidopsis thaliana*. Dep. of Biosci., Division of Genetics and Helsinki Graduate School in Biotechnology and Molecular Biology. – Helsinki: University of Helsinki. Finland. Acad. Dissert. Sari Tähtiharju Yliopistopaino - 2002. – P. 1- 41.
- Taiz L., Zeiger E. *Plant Physiology.* Sunderland: Sinauer Associates, 2009.
- Tamaoki D., Karahara I., Schreiber L., Kamisaka S. Effects of hypergravity environment on lignin formation in *Arabidopsis* // *Biol. Sci. Space.* – 2004. – **18**. – P. 160-161.
- Tamaoki D., Karahara I., Schreiber L. et al. Effects of hypergravity conditions on elongation growth and lignin formation in the inflorescence stem of *Arabidopsis thaliana* // *J. Plant Res.* – 2006. – **119**. – P. 79-84.
- Tanaka K., Murata K., Yamazaki M. et al. Three distinct rice cellulose synthetase catalytic subunit genes required for cellulose synthesis in the secondary wall // *Plant Physiol.* – 2003. – **133**. – P. 73-83.

- Tao D., Li P.H., Carpeter J.V. The role of cell wall in freezing tolerance of cultured potato cells and their protoplasts // *Physiol. Plantarum*. – 1983. – **58**. – P. 527-532.
- Taylor N., Laurie S., Turner S. Multiple cellulose synthase catalytic subunits are required for cellulose synthesis in Arabidopsis // *Plant Cell*. – 2000. – **12**. – P. 2529-2549.
- Teixera A., Andrade A., Ferrarese-Filho O., Ferrarese M.D. Role of calcium on phenolic compounds and enzymes related to lignifications in soybean (*Glycine max* L.) root growth // *Plant Growth Reg.* – 2006. – **49**. – P. 69-76.
- Terzi R., Gьler N.S., Galiskan N., Kadioglu A. Lignification response for rolled leaves of *Ctenanthe setosa* under long-term drought stress // *Turkish J. Biol.* – 2013. – **37**. – P. 614-619.
- Thakur P., Nayyar H. Facing the Cold Stress by Plants in the Changing Environment: Sensing, Signaling, and Defending Mechanisms // In: *Plant Acclimation to Environmental Stress*. Ed. Tuteja N., Singh S. Gill, New York : Springer Science, Business Media, 2013. – P. 29-69.
- Tomas-Barberan F., Gil M., Castaner M. et al. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvest lettuce // *J. Agricult. and Food Chem.* – 1997. – **45**. – P. 583-589.
- Tremblay K., Ouellet F., Fournier J. et al. Molecular characterization and origin of novel bipartite cold-regulated ice recrystallization inhibition proteins from cereals // *Plant Cell Physiol.* – 2005. – **46**. – P. 884-891.
- Trivedi D. K., Ansari M. W., Tuteja N. Multiple abiotic stress responsive rice cyclophilin: (OsCYP-25) mediates a wide range of cellular responses // *Comm. Intg. Biol.* – 2013. – **6** (5). – eLocation ID, e25260.
- Turnbull C., Beadle C., West P., Cromer R. Copper deficiency a probable cause of stem deformity in fertilized *Eucalyptus nitens* // *Can. J. Forest Res.* - 1994. – **24**. – P. 1434-1439.
- Tuteja N. Mechanisms of high salinity tolerance in plants // *Methods Enzymol.* – 2007. – **428**. – P. 419-438.
- Tuteja N., Sopory S. Chemical signaling under abiotic stress environment in plants // *Plant Signaling and Behavior*. – 2008. – **3**. – P. 525-536.
- Tuteja R., Tuteja N. Serial analysis of gene expression (SAGE): unraveling the bioinformatics tools // *Bioessays*. – 2004. – **26**. – P. 916-922.
- Tyree M.T., Cheung Y. N. S. Resistance to water flow in *Fagus grandifolia* leaves // *Can. J. Bot.* – 1977. – **55**. – P. 2591-2599.
- Van de Mortel J., Villanueva L., Shat H. et al. Large expression differences in genes for iron and zinc homeostasis, stress response, and lignin biosynthesis distinguish of *Arabidopsis thaliana* and the related metal hyper accumulation *Thlaspi caerulescens* // *Plant Physiol.* – 2006. – **142**. – P. 1127-1147.
- van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M.J. Significance of Inducible Defense-related proteins in infected plants // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 2006. – **44**. – P. 135-162.
- Vance C.P., Kirk T.K., Sherwood R.T. Lignification as a mechanism of disease resistance // *Ann. Rev. Phytopath.* – 1980. – **18**. – P. 259-288.
- Vartapetian B., Andreeva I., Maslova I., Davtian N. The oxygen and ultrastructure of root cells // *Agrochimica*. – 1970. – **15**. – P. 1-19.
- Vartapetian B., Andreeva I., Generozova I. et al. Functional electron microscopy in studies of plant response and adaptation to anaerobic stress // *Ann. Bot.* – 2003. – **91**. – P. 155-172.
- Vaultier M.N., Cantrel C., Vergnolle Ch. et al. Desaturase mutants reveal that membrane rigidification acts as a cold perception mechanism upstream of the diacylglycerol kinase pathway in Arabidopsis cells // *FEBS Lett.* – 2006. – **580**. – P. 4218-4223.
- Vereyken I.J., Chupin V., Demel R.A. et al. Fructans insert between the head groups on phospholipids // *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Biomemb.* – 2001. – **1510**. – P. 307-320.
- Vergnolle C., Vaultier M.-N., Tacconat L. et al. The cold-induced early activation of phospholipase C and D pathways determines the response of two distinct clusters of genes in Arabidopsis cell suspensions // *Plant Physiol.* – 2005. – **139**. – P. 1217-1233.
- Vincenzo Lattanzio M.T., Cardinali A. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects // In : *Phytochemistry: Adv. in Reseach*. Ed. Imperato F. Research Signpost, Kerala, Fort P.O., India. – 2006. – P. 23-67.

- Vinocur B., Altman A.* Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations // *Curr. Opin. in Biotechnol.* – 2005. – **16**. – P. 123–132.
- Voesenek L.A.C.J., Rijnders J.H.G.M., Peeters A.J.M. et al.* Plant hormones regulate fast shoot elongation under water: From genes to communities // *Ecology*. – 2004. – **85**. – P. 16–27.
- Voesenek L.A.C.J., Colmer T.D., Pierik R. et al.* How plants cope with complete submergence // *New Phytol.* – 2006. – **170**. – P. 213–226.
- Vogler H., Caderas D., Mandel T., Kuhlemeier C.* Domains of expansin gene expression define growth regions in the shoot apex of tomato // *Plant Mol. Biol.* – 2003. – **53**. – P. 267–272.
- Vollenweider P., Cosio C., Gunthardt-Goerg M.S., Keller C.* Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium tolerant willow (*Salix viminalis* L.). Part II. Microlocalization and cellular effects of cadmium // *Environ. Exp. Bot.* – 2006. – **58**. – P. 25–40.
- Vreeburg R.A.M., Benschop J.J., Peeters A.J.M. et al.* Ethylene regulates fast apoplastic acidification and expansin. A transcription during submergence-induced petiole elongation in *Rumex palustris* // *Plant J.* – 2005. – **43**. – P. 597–610.
- Vriezen W.H., De Graaf B., Mariani C., Voesenek L.A.* Submergence induces expansin gene expression in flooding-tolerant *Rumex palustris* and not in flooding-intolerant *R. acetosa*. // *Planta*. – 2000. – **210**. – P. 956–963.
- Wada H., Gombos Z., Murata N.* Enhancement of chilling tolerance of a cyanobacterium by genetic manipulation of fatty acid desaturation // *Nature*. – 1990. – **347**. – P. 200–203.
- Wada T., Katsumi M.* Brassinolide as a modulator of the activities of cell wall loosening proteins // *Plant Biotechnology*. – 2005. – **22**. – P. 33–38.
- Wakabayashi Kazuyuki, Nakano S., Soga K., Hoson T.* Cell wall bound peroxidase activity and lignin formation in azuki bean epicotyls grown under hypergravity conditions. // *J. Plant Physiol.* – 2009. – **166**. – P. 947–954.
- Wakabayashi K., Hoson T., Kamisaka S.* Changes in amounts and molecular mass distribution of cell wall polysaccharides of wheat (*Triticum aestivum* L.) coleoptiles under water stress // *J. Plant Physiol.* – 1997. – **151**. – P. 33–40.
- Walker-Simmons M., Ryan C.A.* Proteinase inhibitor synthesis in tomato leaves. Induction by chitosan oligomers and chemically modified chitosan and chitin // *Plant Physiol.* – 1984. – **76**. – P. 787–790.
- Wallner S.J., Wu M., Anderson-Krengel S.J.* Changes in extracellular polysaccharides during cold acclimation on cultured pear cells // *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* – 1986. – **11**. – P. 636–639.
- Wang Li-Wen, Showalter A.M., Ungar I.A.* Effect of salinity on growth, ion content and cell wall chemistry in *Atriplex prostrata* (Chenopodiaceae) // *Amer. J. Bot.* – 1997. – **84**. – P. 1247–1255.
- Waraich E.A., Ahmad R., Halim A., Aziz T.* Alleviation of temperature stress by nutrient management in crop plants: a review // *J. Soil Sci. and Plant Nutrition*. – 2012. – **12**. – P. 221–244.
- Weng J.K., Li X., Bonawitz N., Chapple C.* Emerging strategies of lignin engineering and degradation for cellulosic biofuel production // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2008. – **19**. – P. 166–172.
- Weng J.K., Takuya Akiyama, Nichololas D. et al.* Convergent evolution of syringyl lignin biosynthesis via distinct pathways in the Lycophyte *Selaginella* and flowering plants // *The Plant Cell*. – 2010. – **22**. – P. 1033–1045.
- Williams L., Pittman J., Hall J.* Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants // *Biochem. Biophys. Acta*. – 2000. – **77803**. – P. 1–23.
- Wilson K., White D.J.B.* Reaction wood: its structure, properties and functions // In: *The anatomy of wood: its diversity and variability*. Eds. Wilson K., White D.J.B. Stobart and Son Ltd, London, UK., 1986. – P. 222–250.
- Wise R.R., Olson A.J., Chrader S.M., Sharkey T.D.* Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown Pima cotton plants at high temperature // *Plant Cell Environ.* – 2004. – **27**. – P. 717–724.
- Wissemeier A.H., Diening A., Hergenroder A. et al.* Callose formation as parameter for genotypical plant tolerance of aluminum and manganese // *Plant Soil*. – 1992. – **14**. – P. 67–75.
- Wissemeier A.H., Horst W.* Effect of calcium supply on aluminum-induced callose formation, its distribution

- and persistence in root of soybean (*Glycine max* (L.) merr.) // J. Plant Physiol. – 1995. – **145**. – P. 470-476.
- Wu Y., Cosgrove D.J. Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall extensibility and cell wall proteins // J. Exp. Bot. – 2000. – **51**. – P. 1543-1553.
- Wuytack R., Gillet C. Nature des liaisons de l'ion calcium dans la paroi de *Nitella flexilis* // Can. J. Bot. – 1978. – **56**. – P. 1439-1443.
- Wuyts N., Lognay G., Swennen R., De Waele D. Secondary metabolites in roots and implications for nematode resistance in banana (*Musca* sp.) // J. Exp. Bot. – 2006. – **57**. – P. 2825-2835.
- Xie B., Hong Z. Unplugging the callose plug from sieve pores // Plant Signaling and Behavior. – 2011. – 6. – P. 491-493.
- Xu K., Xu X., Fukao T. et al. Sub1A is an ethylene-response-factor-like gene that confers submergence tolerance to rice // Nature. – 2006. – **442**. – P. 705-708.
- Xu X.M., Jackson D. Lights at the end of the tunnel: new views of plasmodesmal structure and function // Curr. Opin. Plant Biol. – 2010. – **13**. – P. 684-692.
- Xue-Qin Song, Li-Feng Liu, Yi-Jun Jiang et al., Secondary wall cellulose biosynthesis alters cadmium translocation and tolerance in rice plants // Mol. Plant. – 2013. – **6**. – P. 768-780.
- Yadav S.K. Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review // Agron. Sustain. Dev. – 2010. – **30**. – P. 515-527.
- Yang Y., Yen H.E. Early salt stress effects on the changes in chemical composition of ice plant and Arabidopsis. Cl fouries transform infrared spectroscopy study // Plant Physiol. – 2002. – **130**. – P. 1032-1042.
- Yeh T.F., Goldfarb B., Chang H.M. et al. Comparison of morphological and chemical properties between juvenile wood and compression wood of loblolly pine // Holzforschung. – 2005. – 59. – P. 669-674.
- Yoshida M., Ohta H., Yamamoto H., Okuyama T. Tensile growth stress and lignin distribution in the cell walls of yellow poplar, *Liriodendron tulipifera* Linn. // Trees-Structure and Function, – 2002. – **16**. – P. 457-464.
- Yu S., Yin L.K., Mu S.Y. Discovery of an antifreeze protein in the leaves of *Ammopiptanthus nanus* // Can. J. Plant Sci. – 2010. – **90**. – P. 35-40.
- Yun M.H., Torres P.S., El Oirdi M. et al. Xanthan induces plant susceptibility by suppressing callose deposition // Plant Physiol. – 2006. – **141**. – P. 178-187.
- Zagorchev L., Kamenova P., Odjakova M. The role of cell wall proteins in response to salt stress // The Scientific Wordl Journal. – 2014. – Volume 2014, Article ID 764089. – P. 1-9.
- Zamski E., Orna Ucko, Koller D. The mechanism of root contraction in *Gymnarrhena micranatha*, a desert plant // New Phytol. – 1983. – **95**. – P. 29-35.
- Zenoni S., Reale L., Torielli G.B. et al. Down regulation of the *Petunia hybrida* α -exansin gene *PhEXP1* reduces the amount of crystalline cellulose in cell walls and leads to phenotypic changes in petal limbs // The Plant Cell. – 2004. – **16**. – P. 295-308.
- Zeyen R.J., Carver T.L.W., Lyngkjaer M.F. Epidermal cell papillae // In: The powdery mildew: a comprehensive treatise. Eds. Belanger R.R., Bushnell W.R., MN, USA: APS Press, 2002. – P. 107-125.
- Zhang C., Fei S.-Z., Arora R., Hannapel D. Ice recrystallization inhibition proteins on perennial ryegrass enhance freezing tolerance // Planta. – 2010. – **232**. – P. 155-164.
- Zhang J.H., Huang W.D., Liu Y.P., Pan Q.H. Effects of temperature acclimation retreatment on the ultrastructure of mesophyll cells in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Jingxiu) under cross-temperature stresses // J. Integr. Plant Biol. – 2005. – **47**. – P. 959-970.
- Zhong H., Lüchli A. Changes of cell wall composition and polymer size in primary roots of cotton seedlings under high salinity // J. Exp. Bot. – 1993. – **44**. – P. 773-778
- Zhu J.J., Beck E. Water relations of *Pachysandra* leaves during freezing and thawing. Evidence for a negative pressure potential alleviating freeze-dehydration stress // Plant Physiol. – 1991. – **97**. – P. 1146-1153.
- Zwiasek J.J. Cell wall changes in white spruce (*Picea glauca*) needles subjected to repeated drought stress // Physiol. Plant. – 1991. – **82**. – P. 513-518.

Наукове видання

НЕДУХА Олена Макарівна

КЛІТИННА ОБОЛОНКА РОСЛИН І ФАКТОРИ СЕРЕДОВИЩА

Відповідальний редактор: докт. біол. наук **Н.О. Білявська**

Технічний редактор: *Л.В. Фурта*

Дизайн обкладинки: *П.Е. Фурта*

Підписано до друку 15.12.2014. Формат: 70 x 100/16. Папір офс.

Гарнітура: Arial Narrow. Друк офс. Умов. друк. арк. 24,8.

Обл.-вид. арк. 25,9.

Наклад: 100 прим. Замовлення № 14-20

«Альтерпрес», 01034 Київ, вул. В. Житомирська, 28.

Свідоцтво про реєстрацію ДК №177 від 15.09.2000 р.

Віддруковано: «Альтерпрес», 04112 Київ, вул. Шамрила, 23



Олена Недуха, Віктор Пріма, Емануель Хіларі та Крістофер Браун в лабораторії ангара L у Космічному центрі ім. Кеннеді (США) під час проведення Спільного Українсько- Американського Експерименту, який відбувався на борту космічного корабля «Колумбія» (87-а місія)

Недуха Олена Макарівна,

клітинний біолог, ботанік, доктор біологічних наук, провідний науковий співробітник відділу клітинної біології та анатомії Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, дійсний член Міжнародної Астронавтичної Академії, дослідник в галузі фітоєкології, гравітаційної біології та цитології, автор більше 200 наукових праць, в тому числі співавтор чотирьох монографій та автор - монографії «Гетерофілія у рослин» (2011, Київ: Альтер-прес), присвячених вивченню структурно-функціональної організації рослинних клітин та клітинних механізмів адаптації рослин до змін екологічних факторів.