УДК: 581:1:631.4

БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ У ЛИСТКАХ ТРОПІЧНИХ ВИДІВ ОРХІДНИХ В УМОВАХ ГЕРМЕТИЧНОЇ КАМЕРИ

Н. В. ЗАЇМЕНКО, Т. М. ЧЕРЕВЧЕНКО

Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка НАН України
Україна, 01014 Київ, вул. Тімірязєвська, 1

Досліджено біохімічний склад 4 видів орхідних різної морфоструктури. Виявлено порівняно з контролем збільшення вмісту фотосинтетичних пігментів, підвищення активності окисно-відновних ферментів та зменшення кількості лабільних цукрів у вегетативних органах рослин, які протягом 6 міс знаходились у герметичній камері.

В даний час важливого значення набувають дослідження, пов'язані з вивченням особливостей росту і розвитку рослин в умовах замкнутих біосистем, в тому числі і в герметичних камерах. Аналіз фізіолого-біохімічних змін, які відбуваються в рослинних організмах під дією мікроклімату герметичної камери, дає можливість відібрати оптимальний для космічних експериментів видовий склад рослин, враховуючи їх екотип і морфоструктуру.

Визначити безпосередній вплив невагомості на ростові процеси можливо лише в умовах створення імітованої невагомості — на клиностатах. У Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України протягом двох десятиріч вивчалися особливості розвитку орхідних в умовах довго- (171 доба) та короткотривалого космічного польоту (28 діб) [6]. Отримані раніше та зараз в експериментах на клиностатах дані доводять доцільність подальшого проведення фізіолого-біохімічних досліджень різних видів орхідних для розробки технології вирощування рослин під час багатомісячного або навіть багаторічного перебування людини в космосі чи для створення біокомплексів на різних планетах.

Слід зауважити, що в літературі повністю відсутні відомості стосовно впливу умов гермооб'єму на ріст та розвиток рослин. Наші попередні дослідження показали суттєві зміни в біохімічному складі рослин, зокрема виявлено зменшення кількості дицукрів і підвищення — моноцукрів у листках орхідних за умов клиностатування [7, 8]. Встановлено збільшення вмісту фотосинтетичних пігментів, особливо хлорофілів, у листках епіфітів. Відбувались певні зміни і в розподілі біогенних елементів у рослинах. Так, у наземних видів спостерігалося підвищення вмісту фосфору, калію, кальцію і мангану у вегетативних органах, а у епіфітів, навпаки, виявлено зменшення концентрації макро- і мікроелементів у тканинах. Мікрогравітація викликала значні зміни і в складі вільних амінокислот.

Подальше удосконалення технології культивування рослин в умовах невагомості неможливе без визначення порогів чутливості орхідних до дії мікроклімату гермооб'єму у відповідності з їх морфологічними особливостями. У свою чергу, пізнання механізмів впливу мікроклімату герметичної камери на

© Н. В. ЗАЇМЕНКО, Т. М. ЧЕРЕВЧЕНКО, 1999

рослинні організми дозволить в майбутньому розробити нові методичні підходи до управління автотрофною ланкою екобіосистеми і проаналізувати всі основні функціональні елементи, а саме навколишнє середовище, рослину і замінник ґрунту. При цьому рослину необхідно розглядати як інформаційно-ресурсну систему, стратегія життєдіяльності якої пов'язана з балансом матеріальних і енергетичних ресурсів та цілеспрямованими змінами біохімічного складу рослинного організму згідно з програмою реалізації генотипу у взаємодії з мікрокліматом гермооб'єму. У зв'язку з цим метою роботи було виявлення біохімічних змін у тропічних орхідних різної морфоструктури після 6 міс утримання рослин у герметичній камері.

Об'єктами досліджень були трирічні рослини у фазі активного росту з родини орхідних — Cattleya hybrida Hort., Doritis pulcherrima Lindl., Oncidium sphacelatum Lindl., Vanda hybrida Hort. Серед 4 видів орхідних, які вивчались, представлені рослини з моноподіальним (Doritis pulcherrima, Vanda hybrida) і симподіальним (Oncidium sphacelatum, Cattleya hybrida) типом галуження пагонової системи. Поряд з широкою амплітудою географічного положення даним видам притаманні різні форми росту та чітко виражені морфологічні відмінності.

Експерименти з вивчення впливу мікроклімату гермооб'єму на фізіолого-біохімічні показники рослин проводили в камері при температурі 20—22 °С, освітленні 400 лк, вологості повітря 100 % і вихідній вологості волокнистого замінника ґрунту 75 %. Дослідні види орхідних протягом 6 міс утримували без додаткового поливу. Контрольні рослини вирощували в умовах теплиці при температурі 18—24 °С, освітленні 2500—5000 лк, вологості повітря 75—85 % і вологості субстрату 65—75 % ПВ.

Для оцінки функціонального стану рослин були використані три інтегральні параметри: вміст фотосинтетичних пігментів, вміст вуглеводів, активність окисно-відновних ферментів.

Вміст фотосинтетичних пігментів визначали спектрофотометричним методом за допомогою спектрофотометра СФ-21 за методикою Х.М. Починка [5]. Виміри здійснювали при довжині хвилі 440 (каротиноїди), 644 і 662 нм (хлорофіли). Екстракцію проводили 90%-м ацетоном. Вміст фотосинтетичних пігментів виражали в міліграмах на 100 г сирої речовини.

Вміст лабільних вуглеводів у листках і туберидіях рослин визначали за методом Бертрана в модифікації Б'єррі [4].

Активність окисно-відновних ферментів визначали на спектрофотометрі СФ-21 [3], каталази — йодометричним методом [5]. Для приготування ферментної витяжки використовували 500 мг сирої рослинної тканини. Активність пероксидази враховували при довжині хвилі 430 нм за кількістю пурпургаліна, що утворився. Активність цитохромоксидази та аскорбіноксидази обчислювали за зміною оптичної щільності фосфатного буфера при довжині хвилі 550 і 279 нм, поліфенолоксидази — з пірокатехіном при довжині хвилі 420 нм. Активність каталази виражали у мікромолях пероксиду водню, що розкладає 1 г рослинного матеріалу.

Результати досліджень обробляли стандартними статистичними методами. Середньоарифметичне та похибку вимірювань визначали на підставі чотирикратної повторності з довірчою ймовірністю 0,95.

Кількісний та якісно-функціональний стан пігментного апарату рослин необхідно розглядати як найбільш лабільну субстанцію, через яку поряд з іншими ознаками відбувається пристосування живих організмів до нових умов існування, зокрема гермооб'єму — важливого чинника впливу на процеси росту в умовах космічного польоту. При цьому співвідношення компонентів пігментів є об'єктивним показником, який відтворює взаємозв'язок між рослиною та зовнішнім середовищем. Виходячи з цього, ми враховували не лише вміст хлорофілів і каротиноїдів, але й такі показники, як співвідношення хлорофілів і каротиноїдів, хлорофілу *a* та хлорофілу *b* .

Проведені нами дослідження показали, що вміст пігментів у листках рослин, які тривалий час знаходились у герметичній камері (табл. 1), і контрольного варіанта суттєво від-

— 3014

ТАБЛИЦЯ 1. **Вміст фотосинтетичних пігментів у листках орхідних в умовах гермооб'єму, мг/100 г маси сирої рослини**

Варіант досліду	Хлорофіл		Каротиноїди	Хлорофіл		Хлорофіл $\frac{a+в}{\text{Каротиноїди}}$
	a	*b*		*a+b*	*a/b*	
			Oncidium sphacelatum			
Контроль	13,84	5,55	8,29	19,39	2,49	2,33
Гермооб'єм	25,98	28,16	8,63	48,74	1,17	5,57
			Cattleya hybrida			
Контроль	5,83	3,11	3,36	8,94	1,87	2,66
Гермооб'єм	25,97	14,10	7,60	40,07	1,84	5,27
			Vanda hybrida			
Контроль	47,90	15,30	82,30	63,20	3,13	2,83
Гермооб'єм	50,65	16,95	27,70	67,60	2,98	2,41
			Doritis pulcherrima			
Контроль	22,08	9,87	12,00	31,95	3,32	2,66
Гермооб'єм	22,70	10,20	12,50	32,90	2,20	2,63
$НСР_{0,95}$	1,38	0,97	1,03			

різняються. У дослідних видів орхідних після 6 міс перебування в гермооб'ємі в умовах низького освітлення відбувається підвищення в 1,1—4,4 раза вмісту хлорофілів. У зміні концентрації хлорофілів і каротиноїдів відмічається певний паралелізм, однак концентрація каротиноїдів була стабільнішою.

В умовах гермооб'єму доля хлорофілу *a* значно знижується і значення відношення хлорофілів *a/b* стає меншим. Показане нами зменшення відношення вмісту хлорофілів до вмісту каротиноїдів у досліді відіграє важливу роль у пристосуванні пігментного апарату до умов гермооб'єму, оскільки відомо, що каротиноїди виконують структурну функцію в поєднанні пігменту P_{680} реакційного центру фотосистеми 2 та манганового комплексу [2].

Отримані результати дають підставу віднести рослини ванди і доритису згідно з їх реакцією на умови гермооб'єму до фотолабільного типу, оскільки майже однаковий вміст хлорофілів у листках цих видів у досліді і контролі свідчить про велику потенційну можливість їх оптичного апарату.

З літературних джерел відомо про наявність чіткої залежності між біосинтезом хлорофілів і активністю ферментних систем, які беруть участь у процесах дихання [1]. Цей зв'язок існує за рахунок утворення при диханні різноманітних проміжних метаболітів, які беруть участь у біосинтезі хлорофілу, і пов'язаний з рівнем забезпеченості процесів синтезу необхідною енергією.

Дослідні рослини відрізняються високою активністю цитохромоксидази, а ванда і доритис — також поліфенолоксидази (табл. 2). Можна припустити, що за здійснення синтезу зелених пігментів у листках ванди і доритису в умовах гермооб'єму відповідальні ферменти, які містять мідь, зокрема поліфенолоксидаза, і котрі, включаючись у процеси дихання, підтримують синтез хлорофілу під час стресової ситуації на деякому середньому рівні. Роль цитохромоксидази, ферменту, що містить залізо, в утворенні зелених пігментів у листках всіх дослідних видів орхідних пояснюється виникненням різних попередників хлорофілів, які водночас є компонентами ферментних систем, пов'язаних із синтезом хлорофіл-білкового комплексу.

В різних умовах зовнішнього середовища, зокрема неоднакового рівня освітлення в гермооб'ємі і теплиці та водночас водозабезпечення рослин, у процесі фотосинтезу утворюються різноманітні продукти у відповідності з потребами рослинних організмів і направленістю їх життєвих процесів.

У зв'язку з тим що від особливостей накопичення і відтоку асимілятів залежать ростові та формоутворювальні процеси, ми досліджували вплив умов гермооб'єму на вміст лабільних вуглеводів (цукрів і крохмалю), які є переважною групою речовин, що відкладаються в запас. Аналізуючи дані табл. 3, можна бачити, що шестимісячне перебування орхідей в герметичній камері суттєво вплинуло на вміст вуглеводів як в листках, так і в туберидіях. Спостерігалось різке зменшення вмісту цукрів у вегетативних органах всіх дослідних видів і незначне підвищення вмісту крохмалю в листках ванди і доритису. Отриману залежність, очевидно, можна пояснити змінами активності реакцій фотофосфорилювання в тканинах рослин, що відбуваються за умов високого вмісту хлорофілів у листках при низькому рівні освітлення. Це, в свою чергу, призводить до значних змін цілого ряду процесів у хлоропластах і клітинах внаслідок зменшення співвідношення вмісту АТФ і відновника, що суттєво впливає на фотосинтетичне відновлення вуглекислого газу.

Проведений порівняльний аналіз приросту біомаси дослідних видів орхідних в умовах гермооб'єму і теплиці показав, що довготривале перебування рослин в герметичній камері загалом негативно впливало на ростові процеси. Так, приріст біомаси катлеї і онцидіуму в досліді зменшувався порівняно з контролем відповідно на 157 і 238 %. Для ванди і доритису ці величини становили лише 6,3 і 8,9 %.

ТАБЛИЦЯ 2. **Активність окисно-відновних ферментів у листках орхідних в умовах гермооб'єму, віднос. од.**

Варіант досліду	Цитохромоксидаза	Пероксидаза	Поліфенолоксидаза	Аскорбіноксидаза	Каталаза
			Oncidium sphacelatum		
Контроль	3,97	37,95	1,05	23,17	112,55
Гермооб'єм	6,18	45,63	1,27	27,85	149,73
			Cattleya hybrida		
Контроль	8,79	9,27	2,75	12,79	99,56
Гермооб'єм	15,95	10,73	3,09	13,47	138,29
			Vanda hybrida		
Контроль	2,38	4,15	1,29	56,12	718,33
Гермооб'єм	6,02	4,82	4,33	57,38	727,25
			Doritis pulcherrima		
Контроль	4,15	22,97	3,42	15,78	168,35
Гермооб'єм	8,43	24,11	7,11	16,57	193,61

ТАБЛИЦЯ 3. **Вплив умов гермооб'єму на вміст лабільних вуглеводів у вегетативних органах орхідних, % на масу абсолютно сухої речовини**

Орган	Варіант	Моноцукри	Дицукри	Крохмаль
		Oncidium sphacelatum		
Листки	Контроль	4,09	4,94	4,50
	Гермооб'єм	3,08	4,25	2,62
Туберидії	Контроль	5,13	6,21	4,86
	Гермооб'єм	3,49	4,42	3,07
		Cattleya hybrida		
Листки	Контроль	4,37	2,73	3,97
	Гермооб'єм	3,65	2,41	3,25
Туберидії	Контроль	6,82	3,30	7,20
	Гермооб'єм	5,11	2,78	5,97
		Vanda hybrida		
Листки	Контроль	5,03	5,64	6,02
	Гермооб'єм	4,98	5,33	6,96
		Doritis pulcherrima		
Листки	Контроль	4,75	5,18	5,37
	Гермооб'єм	4,51	4,96	6,08
$НСР_{0,95}$		0,87	0,79	0,83

Таким чином, результати проведених досліджень показали значний вплив умов гермооб'єму на фізіолого-біохімічні процеси орхідних і дозволили визначити шляхи підвищення адаптаційної здатності рослин за рахунок удосконалення технології їх вирощування та оптимізації поживного середовища. Зокрема, в подальших дослідженнях необхідно визначити оптимальний рівень освітлення в герметичній камері з метою створення задовільних умов для росту орхідних різного екотипу і морфоструктури. Отримані дані також показали, що рослини ванди і доритису менш уразливі до дії низької освітленості, ніж інші дослідні види, що може бути пов'язане з високою активністю поліфенолоксидази, яка каталізується сполуками міді. У зв'язку з цим додаткове введення міді в поживне середовище сприяти-

ме підвищенню адаптації рослин на нестачу світла. Крім того, встановлені біохімічні відмінності у різних видів орхідних мають велике значення для розмежування впливу умов гермооб'єму і невагомості на рослинні організми під час тривалого космічного польоту.

1. *Биохимия* и биофизика фотосинтеза / Под ред. А. А. Красновского. — М.: Наука, 1965. — 320 с.
2. *Васильева Л. Ю.* Роль каротиноидов в фотосинтетическом аппарате // Биофизика. — 1997. — **42**, № 1. — С. 156—159.
3. *Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М.* Большой практикум по физиологии растений. — М.: Высш. шк., 1975. — 392 с.
4. *Методы* биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. — Л.: Колос, 1972. — 272 с.
5. *Починок Х. Н.* Методы биохимического анализа растений. — Киев: Наук. думка, 1976. — 336 с.
6. *Черевченко Т. М., Майко Т. К., Богатырь В. Б., Косаковская И. В.* Перспективы использования тропических орхидей для космических исследований // Космическая биология и биотехнология. — Киев: Наук. думка, 1981. — С. 41—45.
7. *Черевченко Т. М., Заіменко Н. В.* Тропічні орхідеї — об'єкт досліджень космічної ботаніки та елемент дизайну кабіни космічних кораблів і орбітальних станцій // Косміч. наука і технологія. — 1998. — **4**, № 5/6. — С. 141—147.
8. *Cherevchenko T., Zaimenko N., Majko T., Sytnjanskaja N.* Effect of simulated microgravitation on phytohormones and cell structure of tropical orchids // Adv. Space Res. — 1996. — **17**, № 6/7. — P. 107—110.

Надійшла 05.01.2000

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛИСТЬЯХ ТРОПИЧЕСКИХ ВИДОВ ОРХИДНЫХ В УСЛОВИЯХ ГЕРМЕТИЧЕСКОЙ КАМЕРЫ

Н. В. Заименко, Т. М. Черевченко

Национальный ботанический сад
им. Н. Н. Гришко НАН Украины, Киев

Исследован биохимический состав 4 видов орхидных различной морфоструктуры. Установлено по сравнению с контролем увеличение содержания фотосинтетических пигментов, повышение активности окислительно-восстановительных ферментов и уменьшение количества лабильных сахаров в вегетативных органах растений, которые на протяжении 6 мес находились в герметической камере.

BIOCHEMICAL CHANGES IN LEAVES OF TROPICAL SPECIES OF ORCHIDS UNDER THE CONDITIONS OF HERMETICALLY SEALED CABIN

N. V. Zaimenko, T. M. Cherevchenko

M. M. Grishko National Botanical Gardens,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

Biochemical content of four species of orchids with different morphological structure was exemined. It was determined that photosynthetic pigments content increased, activity of enzymes redox was higher and labile sugars quantity decreased in vegetative organs of plants after six months of staying in hermetically sealed cabin, in comparison with control.