Fiziologija bilja

Lazarević, Boris; Poljak, Milan

Authored book / Autorska knjiga

Publication status / Verzija rada: **Published version / Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

Publication year / Godina izdavanja: **2019**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:366622

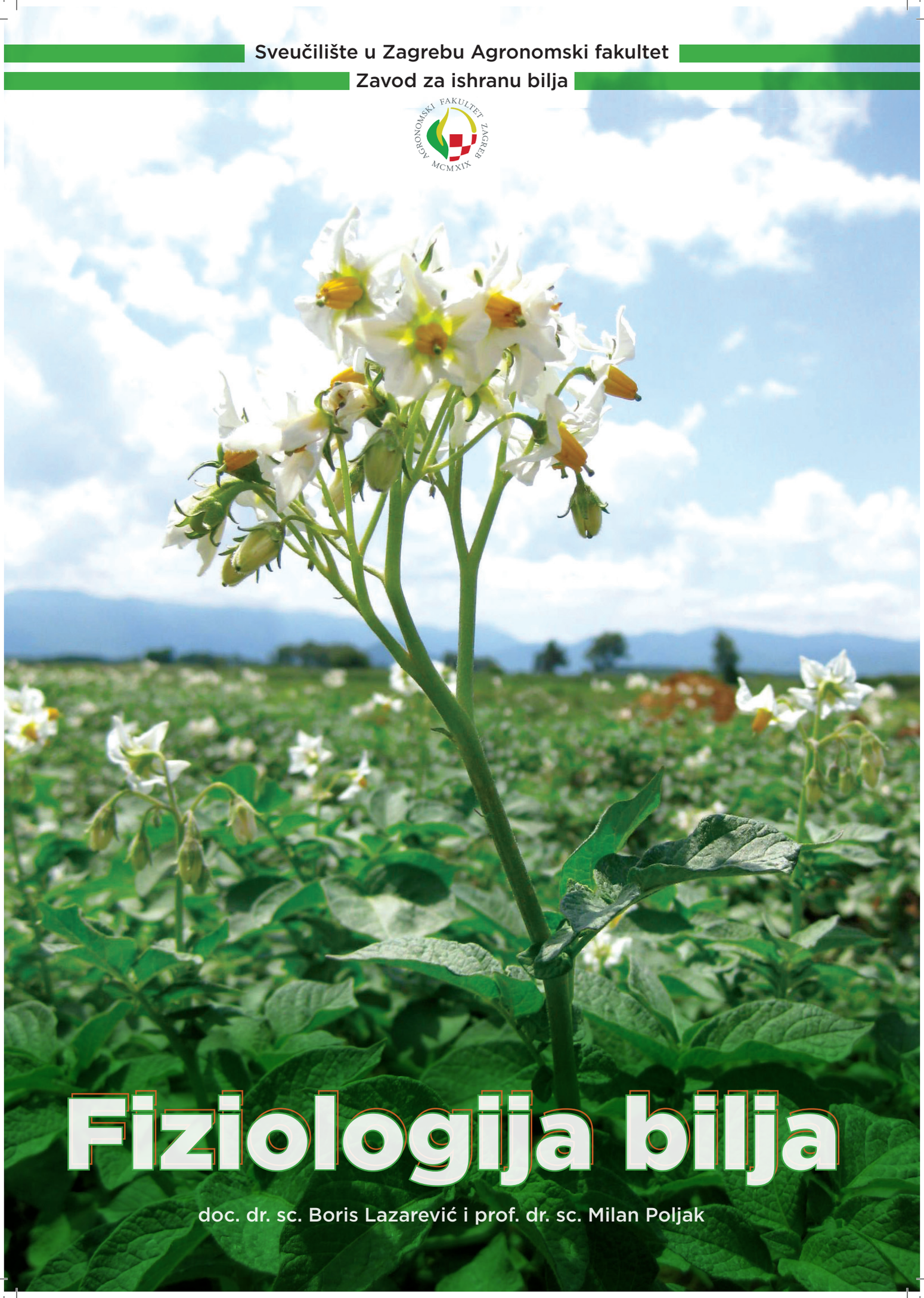
Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-16**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
Zavod za ishranu bilja



Fiziologija bilja

doc. dr. sc. Boris Lazarević i prof. dr. sc. Milan Poljak

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

Zavod za ishranu bilja

Fiziologija bilja

Autori: doc. dr. sc. Boris Lazarević i prof. dr. sc. Milan Poljak

Zagreb, 2019.

IMPRESUM

Nakladnik:
Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

Tisak:
Tiskara Zelina d.d., Sveti Ivan Zelina

Urednik:
Doc.dr.sc. Boris Lazarević

Autori:
Doc.dr.sc. Boris Lazarević, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
Prof. dr. sc. Milan Poljak, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet

Recenzenti:
Prof. dr. sc. Željka Vidaković-Cifrek, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.
Prof. dr. sc. Tihana Teklić, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek.

Lektor:
Ivana Galić Laslavić

Dizajn i prijelom:
Marijo Belinić

Fotografija na naslovnici: Krumpir u cvatu na pokusnom polju kraj Gospića, autor: Boris Lazarević

Naklada: 500 primjeraka

ISBN 978-953-8276-00-2
ISBN 978-953-7878-99-3 (WEB)

Odbor za izdavačku djelatnost Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na sjednici održanoj 22. siječnja 2019. godine donio je Odluku pod brojem 251-71-29-01/9-4 da se rukopisu pod nazivom „Fiziologija bilja“, autora doc. dr. sc. Borisa Lazarevića i prof. dr. sc. Milana Poljaka, odobrava korištenje naziva priručnik Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta.

Predgovor

Fiziologija bilja egzaktna je znanost koja proučava životne procese u biljkama, od klijanja sjemena, vegetativnog rasta i razvoja, cvatnje, stvaranja plodova i sjemena do starenja i ugibanja. Fiziologija bilja izravno je povezana sa svakom biljnom proizvodnjom te je poznavanje fizioloških procesa u biljci temelj svake agronomske struke. Ovaj je priručnik namijenjen studentima preddiplomskih studija Agronomskog fakulteta, kao temeljna literatura za polaganje ispita iz modula Fiziologija bilja, ali i za sve studente koji se žele upoznati s osnovama funkcioniranja biljnog organizma. Modul Fiziologija bilja podijeljen je u tri nastavne cjeline.

U prvoj cjelini studenti stječu znanja o strukturi i funkciji biljne stanice, fiziološkoj ulozi vode u biljnom organizmu, primanju, transportu i načinima izlučivanja vode iz biljke, ulozi mineralnih hranjivih elemenata te njihova primanja i transporta u biljci.

Druga nastavna cjelina razmatra ciklus ugljika koji obuhvaća građu i funkciju fotosintetskog aparata, proces fotosinteze, sintezu asimilata te njihov transport i metabolizam, fotorespiraciju, stanično disanje i vrenja.

U trećoj nastavnoj cjelini studenti se upoznaju s procesima rasta i razvoja, na razini stanice, organa i čitave biljke, sintezom i ulogom biljnih hormona te reakcijama i prilagodbama biljke na čimbenike okoliša. Ovaj priručnik, odnosno poglavlja u njemu prate slijed nastavnih cjelina. Priručnik je temeljen na knjizi „Plant Physiology“ (third edition, 2002 i fourth edition, 2006) autora Lincolna Taiza i Eduarda Zeigera, odakle je preuzet i velik broj slika, tablica i grafova. Mnoge slike preuzete su s interneta te su prilagođene potrebama ovog priručnika, a popis njihovih izvora slika nalazi se na njegovu kraju.

U pisanju pojedinih poglavlja uz navedenu literaturu korištena je i dodatna literatura, poput „Esau’s Plant Anatomy“ i „Mineral Nutrition of Higher Plants“. Sva korištena literatura navedena je u poglavlju „Popis literature“.

Sadržaj

1. Stanica i tkiva ... 8
1.1. Tkiva ... 8
1.1.1. Tvorna tkiva ... 8
1.1.2. Trajna tkiva ... 9
1.2. Stanica ... 10
1.2.1. Citoplazma ... 10
1.2.2. Stanična membrana – plazmalema ... 10
1.2.3. Jezgra ... 12
1.2.4. Mitohondrij ... 12
1.2.5. Plastidi ... 12
1.2.6. Peroksisomi ... 13
1.2.7. Vakuola ... 13
1.2.8. Ribosomi ... 14
1.2.9. Endoplazmatski retikulum ... 14
1.2.10. Golgijev aparat ... 15
1.2.11. Citoskelet ... 16
1.2.12. Stanična stijenka ... 16
2. Voda ... 18
2.1. Struktura i svojstva vode ... 18
2.1.1. Difuzija ... 20
2.1.2. Maseno strujanje ... 20
2.1.3. Osmoza ... 20
2.2. Vodni potencijal u sustavu tlo-biljka-atmosfera ... 21
2.3. Voda u biljci ... 23
2.3.1. Princip ulaska vode u stanicu ... 23
2.3.2. Primanje vode korijenom ... 24
2.3.3. Transport vode ksilemom ... 25
2.4. Izlučivanje vode iz biljke ... 28
2.4.1. Princip izlaska vode iz stanice ... 28
2.4.2. Transpiracija ... 29
2.4.3. Građa i mehanizam rada puči ... 30
2.4.4. Gutacija i suzenje ... 31
3. Mineralna ishrana ... 32
3.1. Esencijalna biljna hranjiva ... 32
3.2. Deficit mineralnih hranjiva ... 33
4. Transport otopljenih tvari ... 36
4.1. Pasivni i aktivni transport ... 36
4.2. Transport iona kroz membranu ... 37
5. Fotosinteza ... 39
5.1. Svjetlosne reakcije ... 39
5.1.1. Svjetlost ... 39
5.1.2. Fotosintetski pigmenti ... 40
5.1.3. Organizacija fotosintetskog aparata ... 41
5.1.4. Mehanizmi prijenosa elektrona ... 43
5.1.5. Sinteza ATP-a – Fotofosforilacija ... 45
5.2. Calvinov ciklus ... 46
5.2.1. Biokemijske reakcije Calvinova ciklusa ... 47
5.2.2. Energetska učinkovitost Calvinova ciklusa ... 48
5.3. C_2 fotosintetski oksidativni ciklus i fotorespiracija ... 49
5.4. Mehanizmi koncentriranja CO_2 ... 50
5.4.1. C_4 fotosintetski put ... 50
5.4.2. CAM – Crassulacean Acid Metabolism ... 52
5.5. Biosinteza saharoze i škroba ... 53
6. Floemski transport ... 54
6.1. Građa floema ... 54
6.2. Model tlačne struje od „izvora do izljeva“ ... 55
6.3. Tvari koje se transportiraju floemom ... 57
6.4. Punjenje floema ... 57
6.5. Pražnjenje floema ... 59
6.6. Prijelaz iz izljeva u izvor ... 59

7. Disanje ... 60
7.1. Glikoliza ... 60
7.2. Vrenja ... 62
7.3. Put pentoza fosfata ... 62
7.4. Ciklus limunske kiseline (Krebsov ciklus) ... 63
7.5. Oksidativna fosforilacija ... 64
7.6. Cijanid-rezistentno disanje ... 65
8. Rast i razvoj ... 67
8.1. Struktura i biosinteza stanične stijenke ... 67
8.2. Smjer rasta stanica ... 68
8.3. Brzina rasta stanica ... 69
8.4. Diferencijacija ... 69
8.5. Embriogeneza ... 69
8.6. Postembrionalni razvoj i regulacija cvatnje ... 70
8.6.1. Cirkadijalni ritam ... 71
8.6.2. Fotoperiodizam ... 71
8.6.3. Vernalizacija ... 73
8.7. Senescencija i programirana smrt stanica ... 73
9. Hormoni ... 74
9.1. Auksini – hormoni rasta ... 74
9.1.1. Pronalazak auksina ... 74
9.1.2. Biosinteza i metabolizam auksina ... 75
9.1.3. Transport auksina ... 76
9.1.4. Fiziološki učinci auksina ... 78
9.2. Giberelini ... 82
9.2.1. Pronalazak i kemijska struktura giberelina ... 82
9.2.2. Biosinteza i metabolizam giberelina ... 82
9.2.3. Fiziološki učinci giberelina ... 83
9.3. Citokinini ... 85
9.3.1. Pronalazak i kemijska struktura citokinina ... 85
9.3.2. Biosinteza, metabolizam i transport citokinina ... 86
9.3.3. Fiziološki učinci citokinina ... 86
9.4. Etilen ... 88
9.4.1. Biosinteza, metabolizam i struktura etilena ... 88
9.4.2. Fiziološki učinci etilena ... 88
9.4.3. Komercijalna upotreba etilena ... 90
9.5. Apscizinska kiselina (ABA) ... 91
9.5.1. Biosinteza, metabolizam i struktura apscizinske kiseline ... 91
9.5.2. Fiziološki učinci apscizinske kiseline ... 92
9.5.3. Dormantnost i ABA ... 94
9.6. Brasinosteroidi ... 95
9.7. Ostale fiziološki aktivne tvari hormonskog djelovanja ... 95
9.7.1. Strigolaktoni ... 95
9.7.2. Jasmonska kiselina ... 95
9.7.3. Salicilna kiselina ... 96
9.7.4. Sistemin ... 96
10. Fiziologija gibanja ... 97
10.1. Slobodna lokomotorna gibanja ili taksije ... 97
10.2. Podražajna gibanja organa ... 98
10.2.1. Tropizmi ... 98
10.2.2. Nastije ... 98
10.3. Autonomna gibanja – nutacije ... 98
11. Fiziologija stresa ... 99
11.1. Stres uzrokovan nedostatkom vode ... 99
11.2. Stres uzrokovan visokim temperaturama – toplinski stres ... 101
11.3. Stres uzrokovan niskim temperaturama – hlađenje i smrzavanje ... 101
11.4. Stres uzrokovan povišenim salinitetom ... 102
11.5. Stres uzrokovan nedostatkom kisika ... 103
Popis literature ... 106
Izvori slika ... 106

1. Stanica i tkiva

Uvod

Stanica je osnovna građevna jedinica svakog biljnog organizma. Biljke su višestanični organizmi izgrađeni od milijuna specijaliziranih stanica. Kad se potpuno razviju, biljne se stanice međusobno mogu znatno razlikovati u građi i funkciji. Iako je sadržaj ovog priručnika namijenjen proučavanju osnovnih fizioloških i biokemijskih procesa u biljci, ipak je vrlo važno imati na umu da će ti procesi ovisiti o građi i funkciji stanice i staničja (tkiva). Stoga ćemo na početku ukratko objasniti tipove i funkcije tkiva te građu stanice.

Bez obzira na znatne razlike u veličini i izgledu (neke su manje od 1 cm do drveća većeg i od 100 m), građa svih sjemenjača vrlo je slična. Vegetativno tijelo biljaka građeno je od korijena, stabljike i lista. Primarna je funkcija lista fotosinteza, funkcija je stabljike da osigura čvrstoću i potporanj biljci, a korijena da učvršćuje biljku u tlu te prima vodu i hranjiva.

Biljni organizam građen je od velikog broja stanica, koje su međusobno povezane u staničja ili tkiva. Tkiva se međusobno razlikuju prema strukturi i funkciji. Strukturne razlike tkiva nastaju zbog različitih tipova stanica (različita građa stanica) koje ih izgrađuju i razlika u njihovu međusobnom povezivanju. Neka su tkiva izgrađena od jednog tipa stanica (jednostavna), dok su druga sastavljena od većeg broja različitih tipova stanica (složena). Raspored tkiva unutar biljnog organizma kao cjeline ili pojedinog biljnog organa određuje njihovu strukturu i funkciju.

1.1. Tkiva

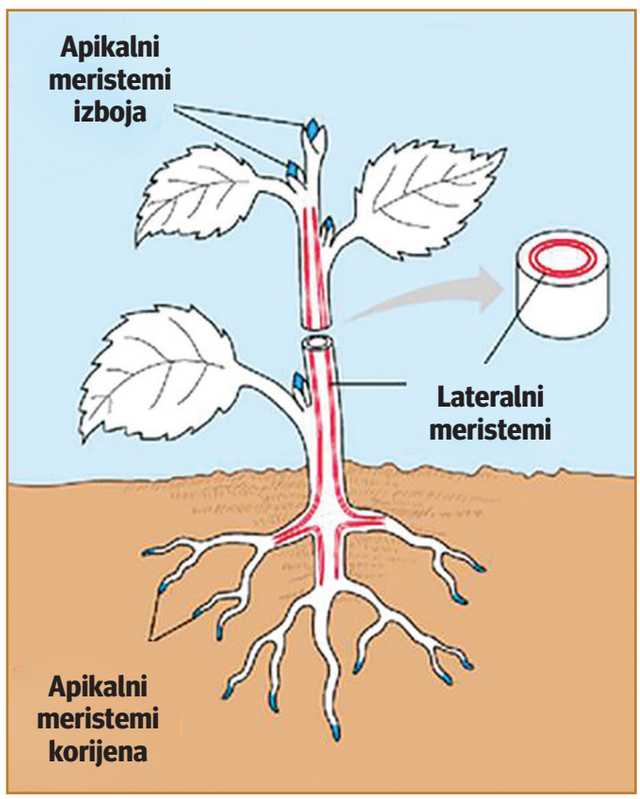
Tkiva možemo podijeliti na:
1. tvorna (embrionalna) tkiva – meristemi
2. trajna (diferencirana) tkiva.
Tipovi biljnih tkiva, njihova funkcija i karakteristike stanica koje ih izgrađuju prikazani su tablicom 1.1.

1.1.1. Tvorna tkiva

Tvorna ili embrionalna tkiva građena su od nediferenciranih stanica, koje zadržavaju sposobnost diobe tijekom čitavog života.
Te su stanice razmjerno male, a protoplasti ih čitave ispunjavaju. Imaju male vakuole i velike jezgre. Stanična stijenka im je tanka, građena samo od primarne stanične stijenke.
Ne sadržavaju diferencirane plastide (kloroplaste), nego njihove preteče, proplastide.

Meristemi mogu biti vršni ili apikalni, a nalaze se na vrhovima izboja ili korijena, te mogu biti i bočni (lateralni) ili se nalaziti u pazušcima listova (aksilarni pupovi). Aksilarni pupovi služe za grananje biljke. Lateralno korijenje raste iz tzv. **pericikla** koji je zapravo unutarnji meristem (**Slika 1.1.**). Faza rasta biljaka u kojoj nastaju novi biljni organi i osnovna struktura biljke naziva se primarni rast. **Primarni rast** rezultat je aktivnosti apikalnog meristema u kojem dolazi do brze diobe i rasta stanica, tzv. elongacije. Nakon primarnog rasta javlja se tzv. sekundarni rast. **Sekundarni rast** javlja se pod utjecajem dvaju bočnih (lateralnih) meristema: žilnog kambija i plutnog kambija. Žilni kambij odgovoran je za stvaranje novih provodnih elemenata (ksilema i floema), a plutni kambij stvara kožno tkivo peridermu.

U sekundarne meristeme još se ubrajaju i aksilarni meristemi, cvatni meristemi i interkalarni meristemi. Diferencijacijom stanica tvornih tkiva nastaju trajna tkiva.



Slika 1.1. Tvorna tkiva – meristemi

1.1.2. Trajna tkiva

Trajna tkiva nastaju nakon diferencijacije meristemskih stanica. Pojednostavljeno se može reći da je biljni organizam sastavljen od tri vrste tkiva: kožnih tkiva, žilnih tkiva i osnovnih tkiva.

Kožno tkivo čine epiderma – vanjski zaštitni sloj koji prekriva biljku, i periderma – zamjenjuje epidermu kod starijih dijelova biljke nakon sekundarnog rasta.

Žilna tkiva zadužena su za provođenje vode (ksilem) i asimilata (floem), a protežu se kroz čitavu biljku i sve organe te povezuju organe zadužene za usvajanje vode (korijen) s organima zaduženim za proizvodnju hrane (asimilata – listovi) i organima zaduženim za rast, reprodukciju i skladištenje.

Osnovna su tkiva parenhim, kolenhim i sklerenhim, a služe za fotosintezu, skladištenje, regeneraciju, zaštitu, čvrstoću biljke i sl.

Tkivo		Tip stanica	Svojstva	Funkcija
Kožno	Epiderma		Nespecijalizirane stanice; stanice zapornice puči, stanice koje formiraju dlačice i sl. tvorevine.	Mehanička zaštita; sprečavanje gubitka vode (kutikula); izmjena plinova (puči).
	Periderma		Sastoji se od plutastih stanica, plutnog kambija i feloderme.	Zamjenjuje epidermu kao zaštitno tkivo u korijenu i stabljici, izmjena plinova uz pomoć lenticela.
Osnovno	Parenhim	Parenhimske	Oblik stanica je poliedarski. Stanična stijenka – primarna ili primarna i sekundarna, može biti lignificirana, oplutnjela ili kutinizirana. Stanice su žive u zrelosti.	Metabolički procesi poput disanja, fotosinteze, skladištenja, regeneracije, zarastanja rana.
	Kolenhim	Kolenhimske	Stanice su izdužene. Stanične stijenke su nejednoliko odebljale, samo primarne, nelignificirane stanične stijenke. Stanice su žive u zrelosti.	Potporno tkivo kod primarne strukture biljaka.
	Sklerenhim	Vlaknaste	Vrlo izdužene stanice. Stanične stijenke: primarne i sekundarne – zadebljale i lignificirane. Vrlo često odumiru tijekom sazrijevanja.	Potporna; skladišna.
		Sklereide	Različitog oblika, kraće od vlaknastih. Stanične stijenke: primarne i sekundarne – zadebljale i lignificirane. U zrelosti mogu biti žive, ali i mrtve.	Mehanička; zaštitna.
Žilno	Ksilem	Traheide	Izdužene šuplje stanice. Stanične stijenke: primarne i sekundarne, zadebljale i lignificirane. Sadrže jažice, ali ne i perforirane ploče. Mrtve u zrelosti.	
		Traheje	Izdužene stanice, ali kraće od traheida, međusobno se redaju u nizove te čine provodne cjevčice. Stanične stijenke: primarne i sekundarne, zadebljale i lignificirane. Sadrže mnoge jažice i perforirane ploče.	
	Floem	Sitasti elementi	Izdužene stanice. Stanične stijenke: primarne sa sitastim pločicama i sitastim poljima. Sitaste pločice imaju pore većeg promjera od pora koje se nalaze na bočnim sitastim poljima. Uz sitaste elemente i njihove stanične stijenke često se javlja kaloza – služi za zarastanje oštećenja. U zrelosti su žive, ali ne sadrže jezgru i tonoplast. Sadrže tzv. P-protein – služi za popravak oštećenja sitastih elemenata. Sitasti elementi međusobno se povezuju u sitaste cijevi.	Tkivo za prijenos asimilata
		Stanice pratilice	Različitih oblika, najčešće izdužene. Stanična stijenka – primarna. U zrelosti su žive. Usko su povezane sa sitastim elementima. Nastaju iz iste majčinske stanice kao i sitasti elementi s kojima su povezani uz pomoć mnogih plazmodezmija.	Opskrbljuju sitaste elemente mnogim tvarima, uključujući signalne molekule i ATP.

Tablica 1.1. Biljna tkiva i tipovi stanica

1.2. Stanica

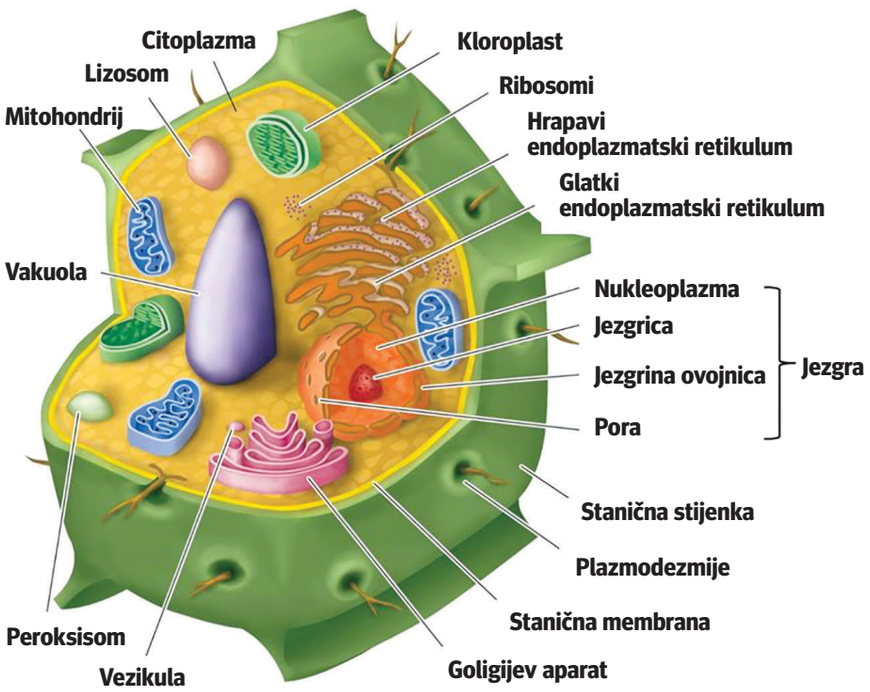
Stanice su najmanje strukturne i funkcionalne jedinice života. Živi organizmi mogu biti izgrađeni od jedne ili većeg broja stanica. Stanice se međusobno znatno razlikuju po obliku, veličini, strukturi i funkciji. Neke su veličine mikrometra, a neke (stanice vlakna) mogu biti dugačke nekoliko centimetara. Neke stanice obavljaju veći broj funkcija, a neke su usko specijalizirane i vrše samo jednu funkciju.

Unatoč velikom broju i raznovrsnosti stanica, one su međusobno vrlo slične sa stajališta građe i biokemijskih procesa koji se u njima odvijaju.

Pojam stanice „cell“ uvodi Robert Hooke u 17. stoljeću kako bi opisao sitne strukture slične saćima koje je promatrao na preparatu pluta pod mikroskopom. Riječ „cell“ potječe od latinskog ***cella***, što znači mala soba. Kasnije Hooke primjećuje da su stanice iz drugih biljnih dijelova ispunjene tekućinom. Naposljetku se sadržaj stanica interpretira kao živa tvar i dobiva naziv **protoplazma**.

Biljke su eukariotski organizmi te su njihove stanice tipične eukariotske stanice. Biljna stanica sadrži jezgru, citoplazmu i organele, a obavijena je staničnom membranom (plazmalema) (**Slika 1.2.)**. Tijekom dozrijevanja stanice događaju se određene promjene i neke stanične strukture (uključujući i jezgru) mogu nestati, no stanice započinju svoj život s vrlo sličnim setom organela. Dodatna specifičnost biljnih stanica je da su omeđene celuloznom staničnom stijenkom.

Biljke su eukariotski organizmi te su njihove stanice tipične eukariotske stanice. Biljna stanica sadrži jezgru, citoplazmu i organele, a obavijena je staničnom membranom (plazmalema) (**Slika 1.2.**). Tijekom dozrijevanja stanice događaju se određene promjene i neke stanične strukture (uključujući i jezgru) mogu nestati, no stanice započinju svoj život s vrlo sličnim setom organela. Dodatna specifičnost biljnih stanica je da su omeđene celuloznom staničnom stijenkom.



Slika 1.2. Dijelovi biljne stanice

1.2.1. Citoplazma

Citoplazma je dio stanice koji okružuje jezgru. Uključuje sve organele i tekućinu (citosol) koja ispunjava stanicu. Kod živih stanica citoplazma je u stalnom gibanju. Gibanje citoplazme je aktivno (uz utrošak energije ATP-a), a javlja se pod utjecajem aktinskih filamenata i proteina miozina. Svrha gibanja citoplazme je prijenos tvari unutar stanice te izmjena tvari između organela.

1.2.2. Stanična membrana – plazmalema

Membrana koja omeđuje stanicu naziva se stanična membrana ili plazmalema. Plazmalema omogućuje stanici da usvoji i zadrži određene tvari te da prema potrebi izluči nepotrebne tvari. Za takav selektivni prijenos tvari preko stanične membrane odgovorni su različiti transportni proteini. Osim stanične membrane koja omeđuje stanicu, u samoj je stanici još velik broj struktura izgrađenih od biomembrana. Tako su sve organele omeđene biomembranama koje slično kao i plazmalema reguliraju ulazak tvari u organelu i izlazak iz nje. (Stoga ćemo u sklopu ovog poglavlja opisati građu biomembrana.)

Građa biomembrana

Sve biomembrane građene su po modelu **fluidnog mozaika** (tekućeg mozaika). Biomembrane se sastoje od dva fosfolipidna sloja u kojima se nalaze membranski proteini (**Slika 1.3**). Membranski proteini čine polovicu ukupne mase biomembrana. Postoje dvije vrste membranskih proteina – integrirani i asocirani (periferni) proteini. Iako je građa svih biomembrana vrlo slična, sam sastav fosfolipidnog dvosloja, kao i svojstva proteina daju svakoj membrani specifična svojstva.

Fosfolipidi su lipidi kod kojih su dvije molekule masnih kiselina kovalentno vezane na alkohol glicerol, koji je

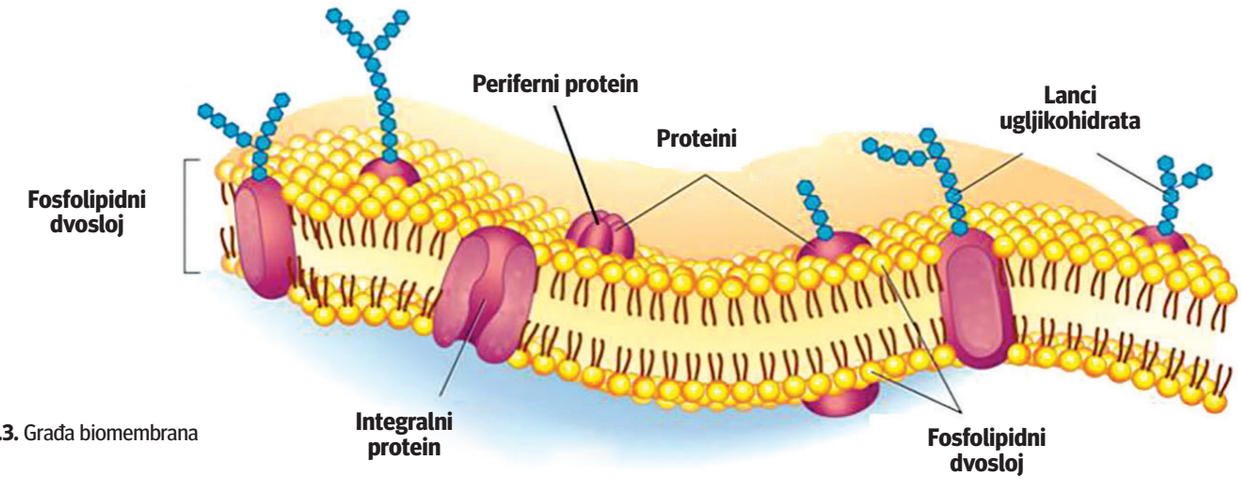
kovalentno vezan s fosfatnom skupinom. Na fosfatnu skupinu još se vežu razne komponente, kao što su aminokiselina serin, kolin, inozitol ili glicerol (**Slika 1.4**). Zbog takve građe fosfolipidi imaju svoj hidrofilni i hidrofobni kraj. Masne su kiseline hidrofobne – odbijaju vodu, a fosfatne su skupine s adiranim skupinama hidrofilne – privlače vodu. Zbog svoje hidrofobnosti masne se kiseline iz pojedinog fosfolipidnog sloja orijentiraju jedne prema drugima (u unutrašnjost biomembrane), a s druge strane hidrofilne glave orijentiraju se prema van (prema mediju koji sadrži vodu) te se tako stvara fosfolipidni dvosloj.

U strukturu fosfolipida ulazi veći broj masnih kiselina (najčešće s 14 do 24 C atoma). Jedna masna kiselina najčešće je zasićena, dok je druga nezasićena i ima jednu ili više cis dvostrukih veza. Prisutnost cis dvostrukih veza onemogućuje zbijeno pakiranje fosfolipida u fosfolipidne slojeve, što membranama daje fluidni karakter. Fluidnost membrana vrlo je važno svojstvo koje omogućuje mnoge funkcije membrane.

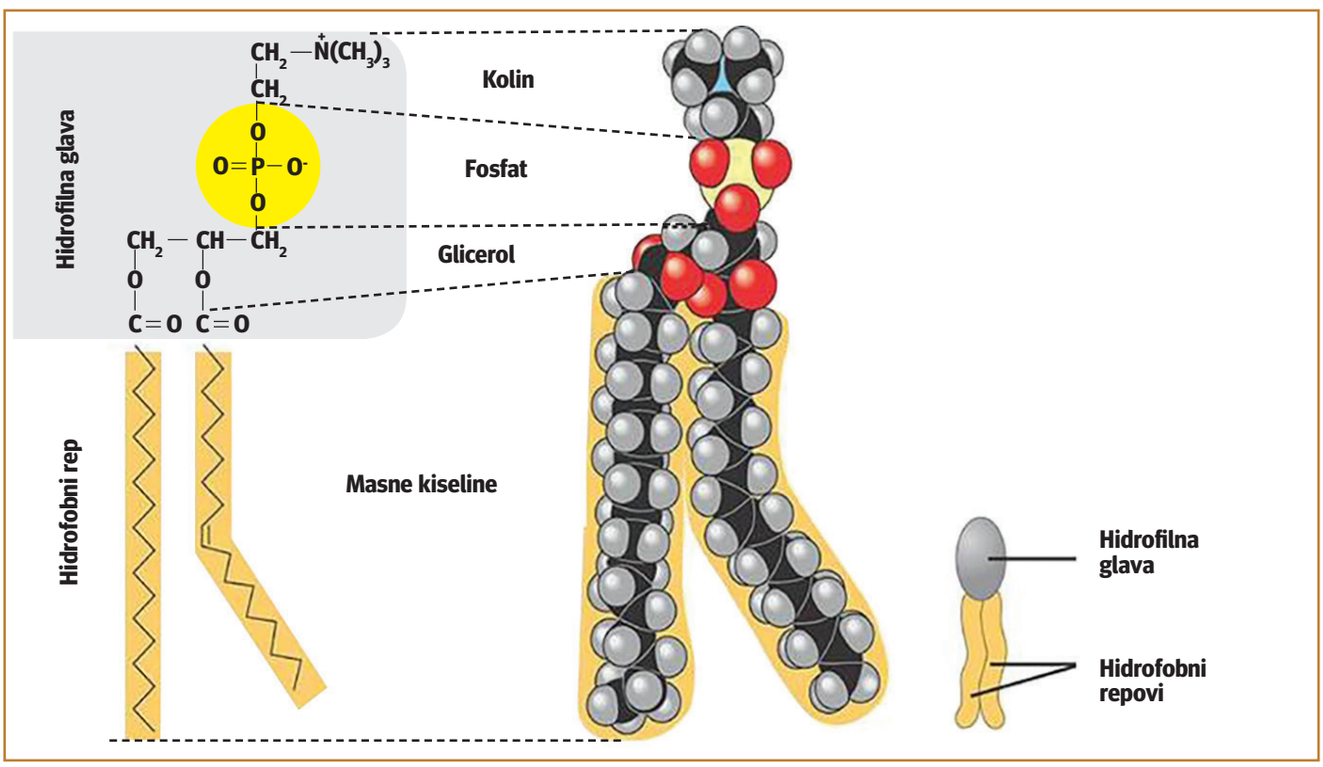
Postoje dvije vrste membranskih proteina: **integralni i periferni.**

Integralni proteini uronjeni su u fosfolipidni dvosloj i protežu se čitavom njegovom širinom. Periferni proteini vezani su površinski na membranu (nalaze se samo s jedne strane membrane).

Membranski proteini nisu vezani kovalentnim vezama za fosfolipidni dvosloj i oni se mogu slobodno kretati („plivati“) po membrani, no ne mogu difundirati s jedne na drugu stranu membrane. Proteini imaju različite funkcije – oni su kanali, nosači, receptori i sl. (detaljnije o funkciji membranskih proteina govorimo u poglavlju o prijenosu tvari preko membrane).



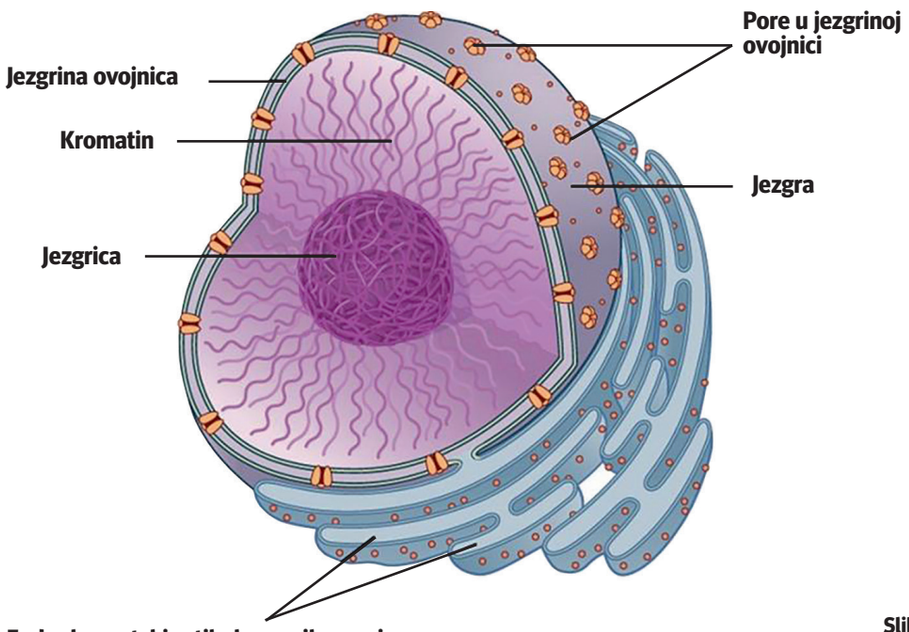
Slika 1.3. Građa biomembrana



Slika 1.4. Građa fosfolipida

1.2.3. Jezgra

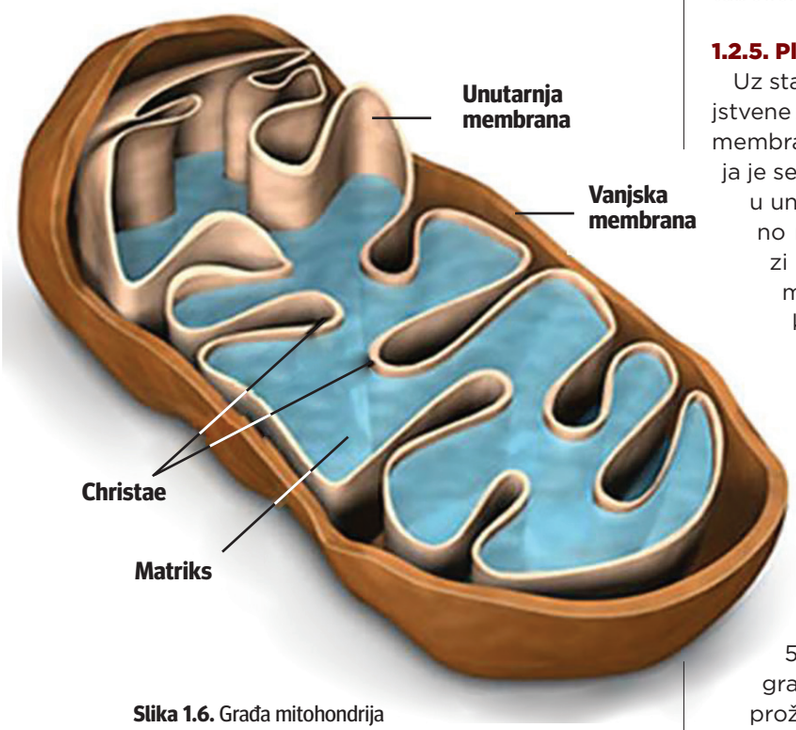
Jezgra ili nucleus (**Slika 1.5**) je organela koja sadrži genetički materijal stanice. Geni pohranjeni u jezgri reguliraju metabolizam, rast i diferencijaciju stanice. Jezgra je obavijena dvostrukom membranom. Između dvije membrane jezgre nalazi se međumembranski prostor (perinuklearni prostor). Dvije membrane međusobno su povezane na mjestima koja se nazivaju pore. Jezgrine pore zapravo su kompleksi sastavljeni od više stotina proteina. Centralni dio pore ima funkciju aktivnog transporta tvari i podjedinica RNK. U jezgri se nalaze kromosomi sastavljeni od DNK i proteina. DNK-proteinski kompleks poznat je pod nazivom kromatin. U jezgri se nalazi gusta granulirana regija koju nazivamo jezgrica (nucleolus) koja predstavlja mjesto sinteze ribosoma. Osim jezgre, biljne stanice posjeduju još dvije organele u kojima se nalazi genetska informacija stanice, a to su mitohondriji i plastidi (kloroplasti).



Slika 1.5. Građa jezgre

1.2.4. Mitohondrij

Mitohondriji su bubrežaste organele obavijene dvostrukom ovojnicom (membranom). Vanjska membrana je propusnija, a unutarnja je slabije propusna i čini tzv. christae. Christae su invaginacije unutarnje membrane mitohondrija koje znatno povećavaju aktivnu površinu unutarnje membrane. Unutrašnjost mitohondrija naziva se matriks (**Slika 1.6**). Mitohondriji sadrže vlastiti DNK i ribosome, što im omogućuje samostalnu diobu. Stoga se mitohondriji smatraju semiautonomnim (poluautonomnim) organelama. Funkcija mitohondrija je stanično disanje, proces u kojem se oslobađa energija iz organske tvari i pretvara u molekule ATP-a (adenozin-trifosfat). ATP je molekula koja služi kao izvor energije za sve metaboličke procese u stanici.



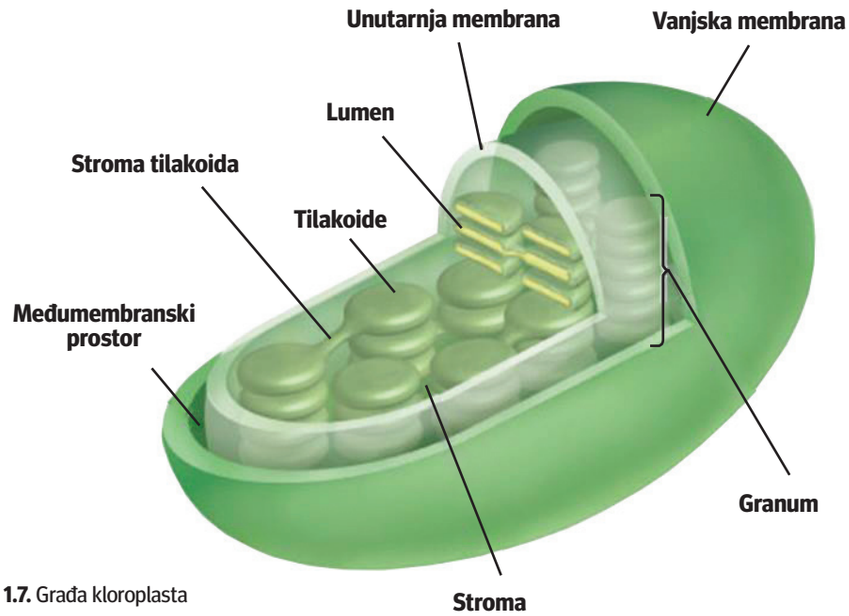
Slika 1.6. Građa mitohondrija

1.2.5. Plastidi

Uz staničnu stijenku i vakuolu, plastidi su organele svojstvene za biljnu stanicu. Plastidi su obavijeni dvostrukom membranom. Vanjska membrana je propusnija, a unutarnja je selektivnija u odnosu na vanjsku. Tekućinski sadržaj u unutrašnjosti kloroplasta naziva se stroma (analogno matriksu kod mitohondrija), a u stromi se nalazi sustav biomembrana koje se nazivaju tilakoidne membrane. Plastidi su poluautonomne organele za koje se smatra da su evoluirale endosimbiozom sa slobodnoživućim cijanobakterijama. Plastidi sadrže vlastiti DNK (nukleoid) i ribosome te se mogu samostalno dijeliti (slično bakterijama). U biljnim stanicama postoji veći broj plastida, a zreli plastidi najčešće se klasificiraju prema pigmentima koje sadrže. Najpoznatiji plastidi su kloroplasti koji sadrže pigmente klorofile i karotenoide. Klorofili su pigmenti koji kloroplastima daju zelenu boju. Najveći broj kloroplasta nalazi se u stanicama mezofila lista (najčešće 50-150 kloroplasta u jednoj stanici).Unutarnja je građa kloroplasta kompleksna. Stroma kloroplasta prožeta je mnogim tilakoidnim membranama.

Postoje dva tipa tilakoidnih membrana, grana ti-

lakoidi (jednina je granum) koje su spljoštenog oblika, poput diskova koji se nalaze jedan iznad drugog, te stroma tilakoidi, tilakoidne membrane koje međusobno povezuju grana tilakoide (**Slika 1.7**). Tilakoidi nisu fizički povezani s unutarnjom ili vanjskom membranom kloroplasta, nego su potpuno uronjeni u stromu kloroplasta. Unutrašnjost tilakoidnih membrana naziva se lumen. Pigmenti klorofili (klorofil *a* i *b*) i karotenoidi zaduženi su za apsorpciju svjetlosti, a nalaze se u tilakoidnim membranama. Karotenoidi i klorofil *b* predstavljaju pomoćne pigmente koji imaju ulogu proširenja spektra apsorpcije klorofila a, odnosno proširuju spektar apsorpcije svjetlosti koja sudjeluje u procesu fotosinteze. Uz to, karotenoidi imaju ulogu antioksidansa te sprečavaju fotooksidaciju klorofila. Kloroplasti često sadrže i molekule škroba u obliku škrobnih zrnaca. Takva škrobna zrnca javljaju se u vrijeme intenzivne fotosinteze kao privremeni skladišni produkti.Drugi tip plastida su kromoplasti (chroma – boja).



Slika 1.7. Građa kloroplasta

To su plastidi koji sadrže karotenoide, ali ne i klorofil. Karotenoidi daju takvim plastidima žute, narančaste i crvenkaste boje. Kromoplasti se javljaju u laticama cvjetova, plodovima, starom lišću, u nekim tipovima korijenja. Mogu nastati transformacijom kloroplasta, pri čemu se razgrađuju tilakoidne membrane i klorofil, a nakupljaju se karotenoidi (npr. to se događa pri zriobi plodova). Nastanak kromoplasta iz kloroplasta reverzibilan je proces. Primjerice, kod plodova citrusa ili korijena mrkve kromoplasti nastali iz kloroplasta mogu se ponovno pretvoriti u kloroplaste, tako što se u njima razviju tilakoidne membrane i sintetizira klorofil.Postoje i plastidi koji nemaju pigmente, to su tzv. leukoplasti. Oni u svojoj stromi nemaju razvijen sustav tilakoidnih membrana. Ovi plastidi služe za skladištenje različitih organskih tvari, a prema vrsti tvari koju skladište nazivamo ih: amiloplasti – skladište škrob; proteinoplasti – skladište proteine; elaioplasti – skladište masti. Osim u skladišne svrhe, amiloplasti koji se nalaze u korijenovoj kapi služe za prepoznavanje sile teže i tzv. pozitivni geotropizam (o kojem će biti riječ u poglavlju o gibanjima u biljaka). Svi plastidi nastaju iz proplastida. Proplastidi su mali bezbojni plastidi koji se nalaze u dijelovima biljka koji još nisu diferencirali (meristemi korijena i izboja). Za razvoj plastida iz proplastida potrebna je svjetlost. U nedostatku svjetlosti ne dolazi do razvoja tilakoidnih membrana te nastaju tzv. etioplasti, a biljke koje rastu u tami blijede su i izdužene (etiolirane). Ako se naknadno osvijetle, kod etioplasta dolazi do sinteze tilakoidnih membrana i pigmenata u njima te se razvijaju kloroplasti.

1.2.6. Peroksisomi

Za razliku od plastida i mitohondrija koji su obavijeni dvjema membranama, peroksisomi su obavijeni jednostrukom membranom. No najvažnija je razlika u tome što peroksisomi nemaju vlastiti DNK i ribosome. Peroksisomi su sferična tjelešca koja se još nazivaju i mikrotjelešcima. Njihov sadržaj i funkcija vrlo su plastični i ovise o tipu stanica u kojima se nalaze te provode velik broj metaboličkih procesa.

Tako peroksisomi u lišću sudjeluju u metabolizmu glikolata u procesu fotorespiracije.

Fotorespiracija je proces koji se odvija u tri organele u stanici, kloroplastu, peroksisomu i mitohondriju, te se ove organele u stanicama lista često nalaze jedna uz drugu.

Peroksisomi u endospermu i kotiledonima klijajućeg sjemena sudjeluju u mobilizaciji masti, procesu kojim se razlažu rezervne masti i sintetizira šećer. Stoga se u ovim tkivima peroksisomi često nazivaju glioksisomi.

Glioksisomi mogu prijeći u normalne peroksisome, tj. pod utjecajem svjetla kojem su izloženi kotiledoni pri klijanju te s trošenjem rezerve masti, glioksisomi prestaju provoditi β-oksidaciju masnih kiselina i glioksalatni ciklus te mogu sudjelovati u fotorespiraciji. Peroksisomi sadrže enzime katalazu i peroksidazu čija je funkcija razgradnja vodikova peroksida.

1.2.7. Vakuola

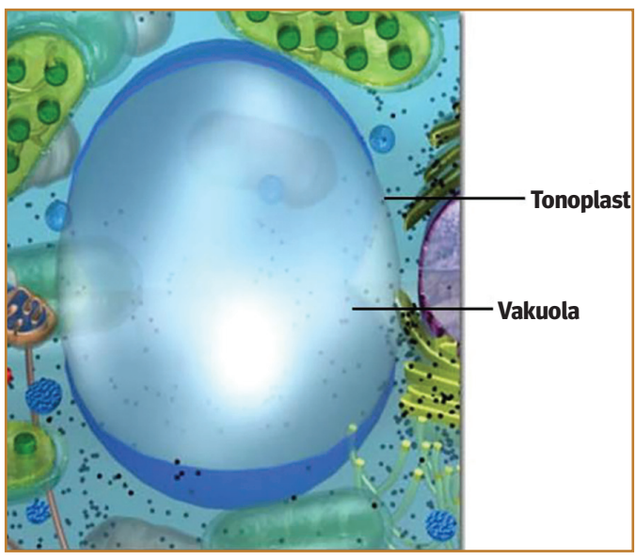
Vakuole su multifunkcionalne organele te se razlikuju po svojoj veličini, broju, sadržaju i funkcijama. Neke vakuole služe prije svega kao skladišne organele, dok druge služe kao mjesta razgradnje. Vakuola je obavijena membranom koju nazivamo tonoplast (**Slika 1.8**), a funkcija vakuole uglavnom ovisi o vrsti tkiva u kojem se nalazi i tipu proteina u tonoplastu. Mnoge mlade meristemske stanice sadrže veći broj sitnih vakuola. S porastom stanice rastu i vakuole te se međusobno spajaju u jednu veliku vakuolu.

Odvojeno, porast stanice uglavnom se javlja zbog ras-

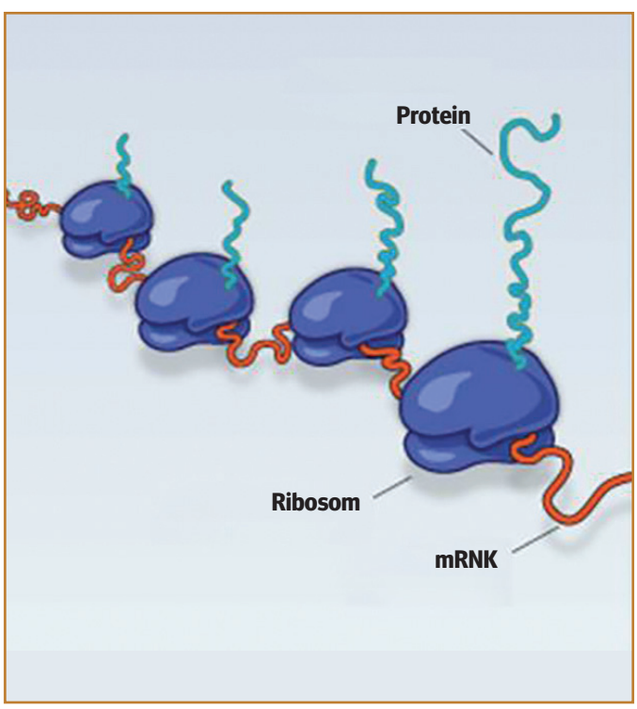
ta vakuola. Kod zrelih stanica vakuola zauzima i do 90 % ukupnog volumena stanice, dok je ostatak citoplazme pritisnut uza staničnu stijenku. Tonoplast (membrana vakuole) selektivno je propustan te je stoga uključen u stvaranje osmotskog potencijala u stanici, a time i u regulaciju turgora.

Turgor je pozitivni hidrostatski tlak u stanici, odnosno tlak staničnog sadržaja na staničnu stijenku, koji stanicu drži napetom; o turgoru će biti više riječi u poglavlju o primanju, transportu i izlučivanju vode.

U vakuolama najveći udio zauzima voda, a ovisno o tipu stanice, organa i biljke, u vakuoli se nalaze i druge tvari, kao što su šećeri, aminokiseline, organske kiseline, anorganski ioni (Ca^{2+}, K^+, Na^+, NO_3^-, PO_4^{3-}) te se otopina



Slika 1.8. Vakuola



Slika 1.9. Ribosomi povezani u polisome

vakuole naziva stanični sok. Ove se tvari ne sintetiziraju u vakuoli, nego u drugim dijelovima stanice te se transportiraju i skladište u vakuoli. Stoga su vakuole važne skladišne organele u biljnoj stanici.

Npr. tijekom dana se u procesu fotosinteze u stanicama mezofila lista sintetiziraju šećeri koji se skladište u vakuolama; zatim kod biljaka s CAM tipom fotosinteze u vakuolama se skladišti malat (jabučna kiselina) koji se tijekom dana ispušta iz vakuole, dekarboksilira i služi kao izvor CO_2 za proces fotosinteze. Nadalje, u vakuolama se često skladište produkti sekundarnog metabolizma biljaka (alkaloidi, fenoli, tanini i sl.) te toksični elementi (npr. teški metali) kako bi se spriječio njihov negativni utjecaj na metaboličke procese u citoplazmi.

U vakuoli se često skladište i različiti biljni pigmenti, primjerice antocijani – pigmenti koji daju ljubičaste, purpurne, plavičaste boje različitim biljnim dijelovima (plodovi, latice, listovi) – često se nalaze otopljeni u vakuolama stanica epiderme.

Osim skladišne uloge, vakuole su i mjesta razgradnje makromolekula te svojevrsna mjesta „reciklaže“ u stanici pa se s ciljem razgradnje u vakuolu transportiraju i skladište mnogi enzimi, osobito hidrolaze i oksidaze. Enzimi iz vakuola mogu razgraditi tonoplast te čitavu citoplazmu, što se i događa u tzv. programiranoj smrti stanica, procesu u kojem npr. nastaju mrtve stanice ksilema.

1.2.8. Ribosomi

Ribosomi su malene organele sastavljene od proteina i RNK. Oni su mjesta sinteze proteina te su vrlo zastupljeni u metabolički aktivnoj stanici.

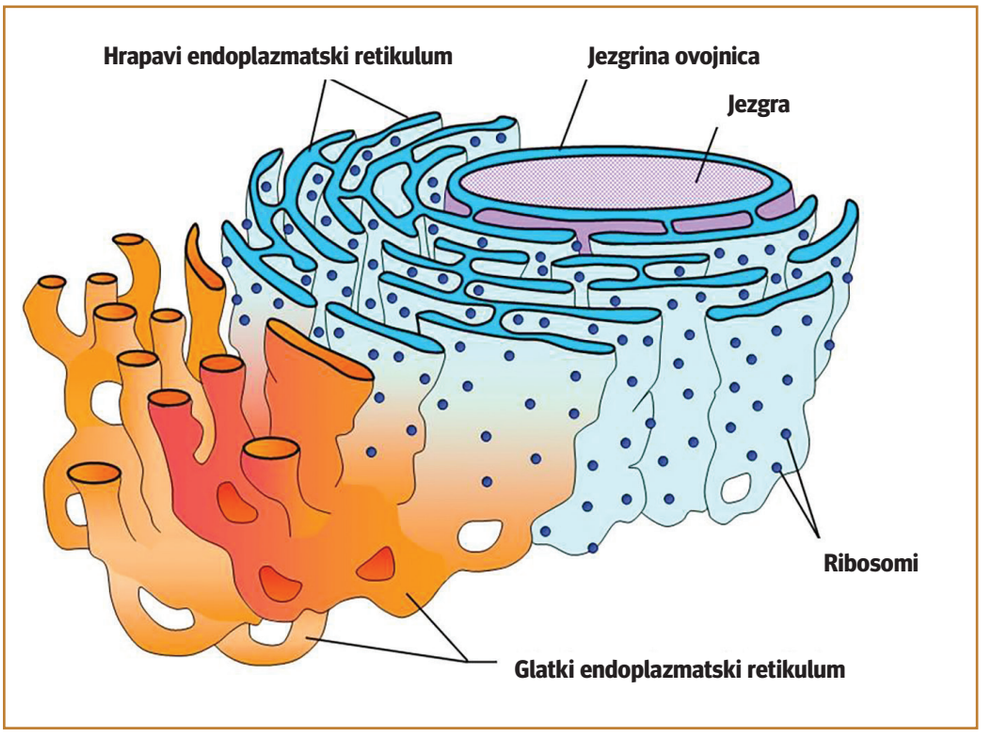
Ribosomi se mogu nalaziti slobodni u stanici, na endoplazmatskom retikulumu i na vanjskoj površini jezgrine ovojnice. To su najbrojnije organele u stanici, a nalaze se još i u jezgri, mitohondriju i plastidima. Veći broj ribosoma vezanih uz mRNK, aktivno uključenih u sintezu proteina, naziva se polisomi ili poliribosomi (**Slika 1.9**).

1.2.9. Endoplazmatski retikulum

Endoplazmatski retikulum (ER) sastavni je dio sustava unutarstaničnih membrana koje se nadovezuju na jezgrinu ovojnicu. ER je trodimenzionalni sustav „mreža” tubula koje prorastaju čitav citosol i stvaraju vrlo bliske veze s drugim organelama.

Tubule se međusobno povezuju stvarajući mrežu poligona i spljoštenih cisterni. Funkcija ER-a stoga je povezivanje i komunikacija između organela u stanici, ali i sustav za sintezu i transport proteina i lipida. Postoje dva tipa ER-a – prvi je glatki koji ima više tubularnih struktura, a funkcija mu je sinteza lipida, dok je drugi hrapavi koji ima više cisterna te na membranama nosi ribosome i funkcija mu je sinteza proteina (**Slika 1.10**).

ER zapravo proizvodi nove elemente biomembrana (lipide i proteine) i ti se elementi zahvaljujući transportnim vezikulama prenose na Golgijev aparat, koji ih uz pomoć sekretornih vezikula transportira na mjesto sinteze stanične membrane. Stoga ER i Golgijev aparat čine funkcionalnu jedinicu, pri čemu Golgijev aparat pretvara elemente biomembrana nastale na ER-u u elemente specifične za plazmalemu.



Slika 1.10. Građa endoplazmatskog retikuluma

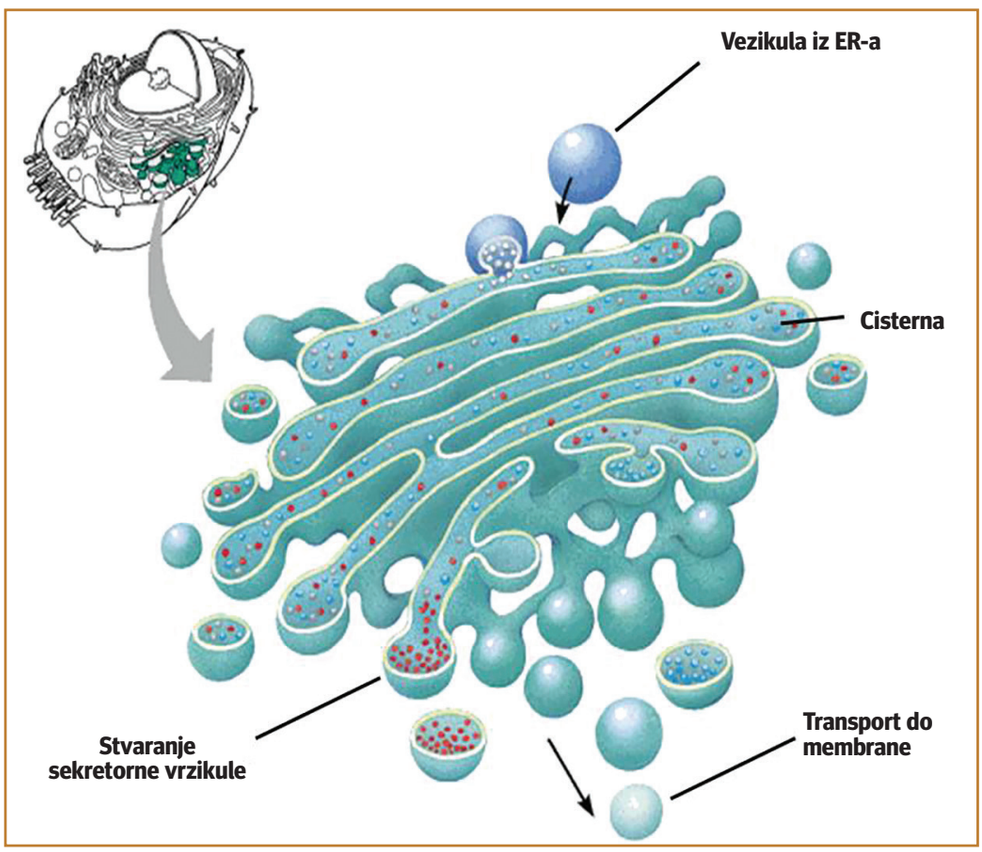
1.2.10. Golgijev aparat

Golgijev aparat građen je od 5 do 8 spljoštenih cisterni obavijenih membranama i poredanih jedna na drugu (**Slika 1.11**).

U većini biljnih stanica Golgijev aparat vrši dvije osnovne funkcije: 1. sinteza necelulozних polisaharida stanične stijenke (pektini i hemiceluloza) i 2. glikolizacija proteina. Golgijev aparat ima važnu ulogu u sintezi stanične stijenke i stanične membrane.

Osim što sintetizira polisaharide koji ulaze u sastav stanične stijenke, Golgijev aparat stvara sekretorne vezikule uz pomoć kojih se ti polisaharidi transportiraju do stanične membrane.

Vezikule se stapaju sa staničnom membranom čime se zapravo stvaraju novi dijelovi stanične membrane, a polisaharidi iz vezikula izbacuju se izvan stanice na mjesto sinteze stanične stijenke.



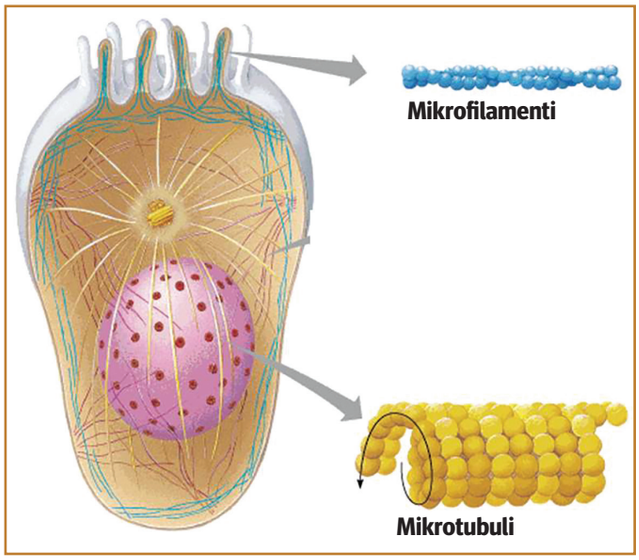
Slika 1.11. Građa Golgijeva aparata

1.2.11. Citoskelet

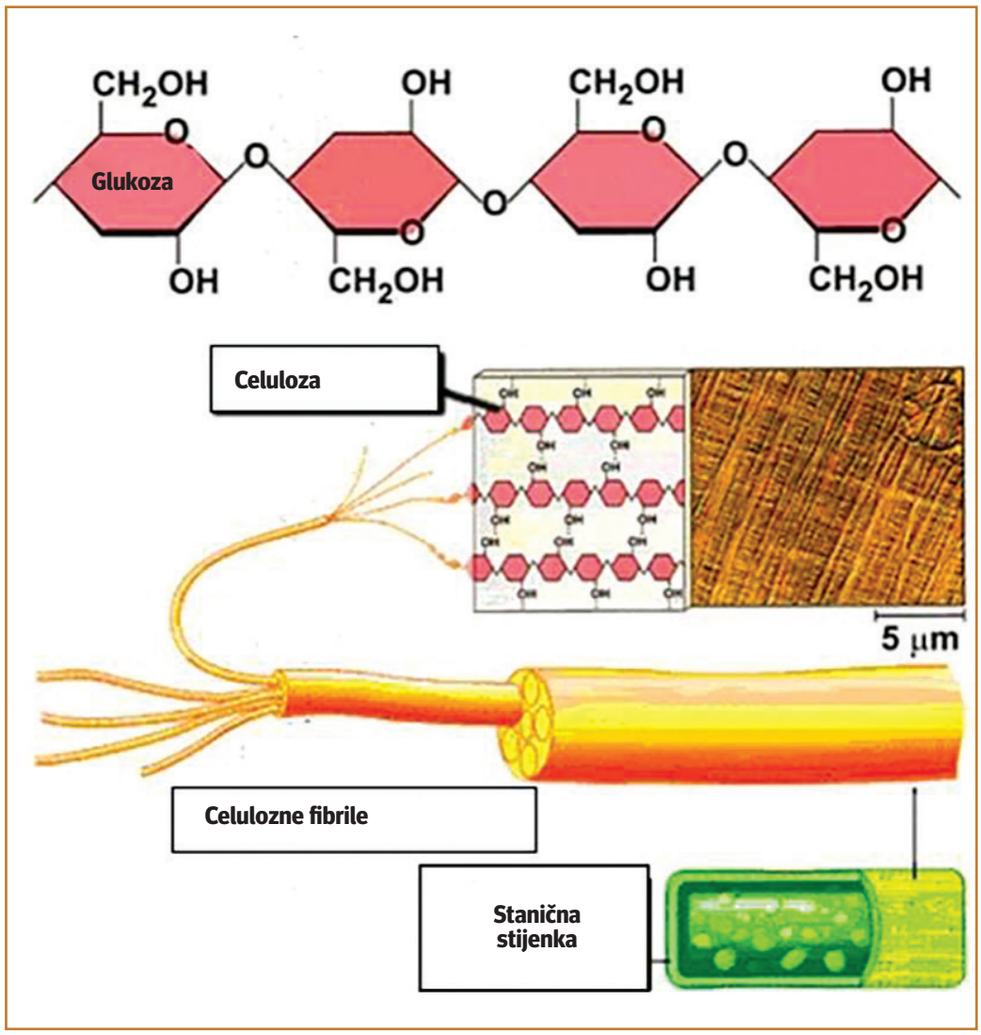
Citoskelet je trodimenzionalna mreža proteinskih filamenata koji prožimaju čitavu stanicu te su uključeni u mnoge procese, uključujući mitozu i citokinezu, rast i diferencijaciju stanice, kretanje organela, strujanje citoplazme i komunikaciju između stanica. Citoskelet se sastoji od mikrotubula i aktinskih filamenata (mikrofilamenti) (**Slika 1.12.**).

Mikrotubuli su cilindrične strukture sastavljene od proteina tubulina. Mikrotubuli su dinamičke strukture koje se tijekom života stanice više puta sastavljaju, izgrađuju i ponovno razgrađuju. Takva mogućnost organizacije omogućuje im stvaranje struktura poput diobenog vretena, fragmoplasta i sl. koje omogućuju diobu stanica i rast novonastalih stanica kćeri.

Aktinski filamenti ili mikrofilamenti izgrađeni su od dva linearna lanca molekula aktina koji tvore spiralu. Oni imaju važnu ulogu u polarnosti stanice, kretanju citoplazme i organela, rastu polenove mješinice i korijenovih dlačica, komunikaciji između stanica kroz plazmodezmije, reakcije na mehaničke podražaje i dr.



Slika 1.12. Građa citoskeleta (mikrotubula i aktinskih filamenata)

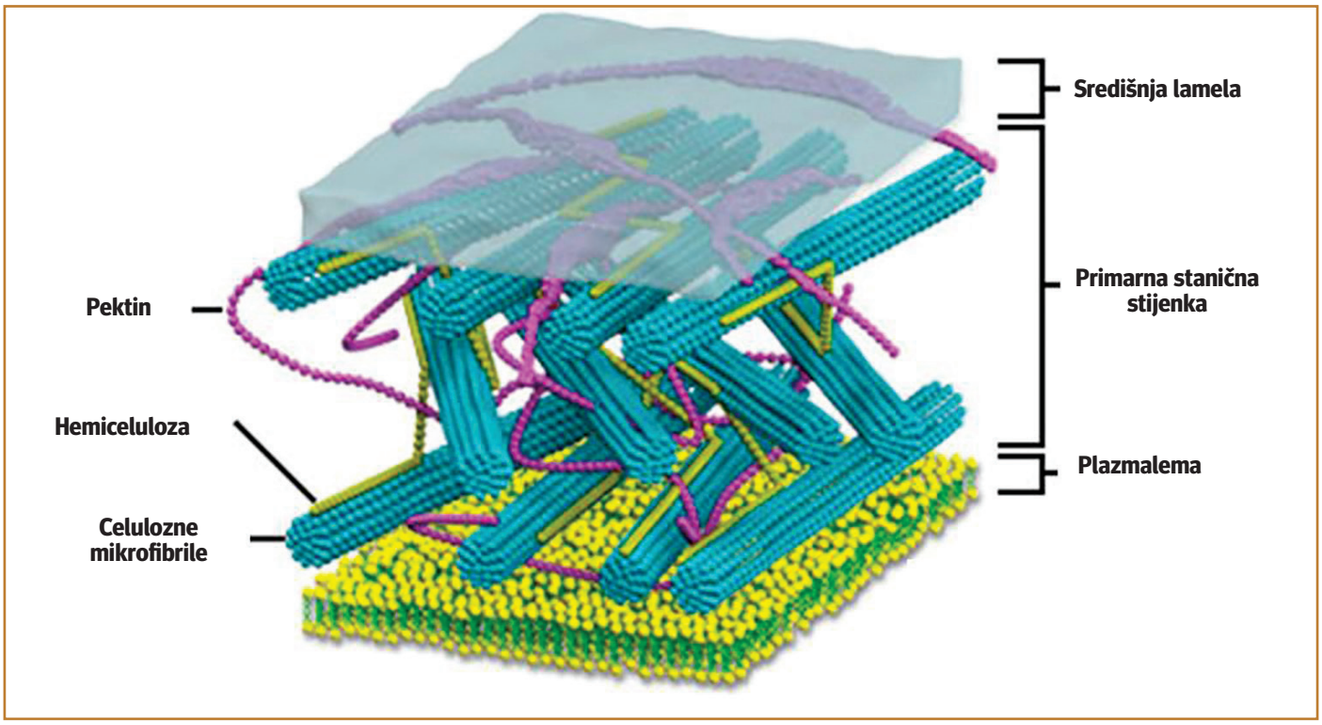


Slika 1.13. Struktura celuloznih fibrila

1.2.12. Stanična stijenka

Prisutnost stanične stijenke predstavlja jednu od ključnih razlika između biljne i životinjske stanice. Stanična stijenka daje mnoga važna svojstva biljnoj stanici, određuje oblik i veličinu stanice, teksturu tkiva i konačni izgled biljnih organa. Ona ograničava veličinu protoplasta i sprečava njegovo puknuće pri ulasku vode u stanicu. Funkcija stanica često je određena građom i tipom stanične stijenke (primarna ili sekundarna). Stanična stijenka sadrži enzime odgovorne za primanje, transport i sekreciju tvari te komunikaciju između stanica, a i štiti stanicu od mehaničkih oštećenja i napada patogena.

Stanična stijenka građena je od polisaharida, glikoproteina i anorganskih tvari. Najzastupljeniji polisaharid u staničnoj stijenci je celuloza – polisaharid građen od molekula glukoze povezanih β1→4 glikozidnom vezom. Takvi dugački lanci polisaharida glukoze međusobno se povezuju



Slika 1.14. Građa stanične stijenke

vodikovim vezama, pri čemu čine celulozne mikrofibrile. Celulozne mikrofibrile povezuju se u niti koje se međusobno isprepleću u celulozne fibrile (**Slika 1.13**). Celulozne fibrile uronjene su u matriks polisaharida hemiceluloze i pektina te strukturnih proteina poznatih pod nazivom glikoproteini (**Slika 1.14**).

Hemiceluloza je zajednički naziv za veći broj heteropolisaharida, a jedna od najzastupljenijih hemiceluloza je ksiloglukan. Sastavljen je od glukoze povezane u lance β1→4 glikozidnom vezom (kao i celulozne mikrofibrile) te različitih kratkih postranih lanaca sastavljenih od ksiloze, galaktoze i fukoze. Osim ksiloglukana, u sastav staničnih stijenki ulaze i drugi tipovi hemiceluloze, kao što su ksilani, glukomanani i sl.

Pektini su vjerojatno najheterogenija skupina polisaharida. Dvije osnovne komponente pektina su poligalakturonska kiselina i ramnogalakturonan. Ove dvije komponente čine pektine želatinoznim matriksom u koji su uronjeni lanci celuloze i hemiceluloze. Pektini su izrazito hidrofilni te navlače vodu u staničnu stijenku. To svojstvo uvelike utječe na rastezljivost stanične stijenke.

U strukturi stanične stijenke važnu ulogu imaju ioni Ca^{2+}. Mlade stanične stijenke (stanice meristemskih tkiva) sadrže male količine Ca^{2+}, no sa starenjem u stanične stijenke ugrađuje se sve više Ca^{2+}. Kalcij međusobno povezuje molekule pektina i time smanjuje njihovu rastezljivost (elastičnost).

Osim polisaharida, u strukturu stanične stijenke ulaze i glikoproteini. To su strukturni proteini, a vrsta proteina strogo je specifična i ovisi o tipu stanice. Osim strukturnih proteina, u staničnim stijenkama nalaze se i mnogi enzimi zaduženi za zaštitu stanice, izgradnju stanične stijenke, ali i za njenu razgradnju.

Prisutnost stanične stijenke onemogućuje izravni kontakt između staničnih membrana susjednih stanica. Međutim, stanične stijenke ispresijecane su mnogim kanalićima, tzv. plazmodezmijama, koji služe za komunikaciju između stanica. Prisutnost plazmodezmija omogućuje neprekinut dodir između protoplasta susjednih stanica. Takav kontinuirani sustav povezanih protoplasta naziva se simplast. S druge strane, svi prostori staničnih stijenki stanica biljke međusobno su povezani, a takav kontinuirani sustav nazivamo apoplast. Stoga u transportu tvari od stanice do stanice razlikujemo tzv. simplastni put, kada se tvari kreću kroz plazmodezmije ili preko membrana, i apoplastni put, kada se tvari kreću niz kontinuum staničnih stijenki (o ovim načinima transporta bit će još riječi u poglavlju o primanju vode).

Stanice mogu biti obavijene primarnom i sekundarnom staničnom stijenkom. Primarnu staničnu stijenku nalazimo kod mladih stanica koje se dijele i rastu te kod stanica uključenih u metaboličke procese poput fotosinteze, sekrecije i skladištenja. Primarna stanična stijenka relativno je tanka te omogućuje diobu stanica, nastanak i diferencijaciju novih tkiva (što je važno za regeneraciju i zacjeljivanje rana).

Sekundarna stanična stijenka javlja se kod specijaliziranih stanica koje imaju mehaničku ulogu, uključujući i one koje sudjeluju u transportu vode. Kod takvih se stanica nakon nastanka sekundarne stanične stijenke često javlja programirana smrt protoplasta. U strukturi sekundarne stanične stijenke nema pektina, strukturnih proteina i enzima (ili ih je vrlo malo), zbog čega ona nije elastična, nego je čvrsta i rigidna. S druge strane, u sekundarnu staničnu stijenku ugrađuje se lignin. To je vrlo čvrst fenolni polimer koji povećava čvrstoću i vodonepropusnost stanične stijenke te njenu otpornost na mikrobiološku razgradnju.

2. Voda

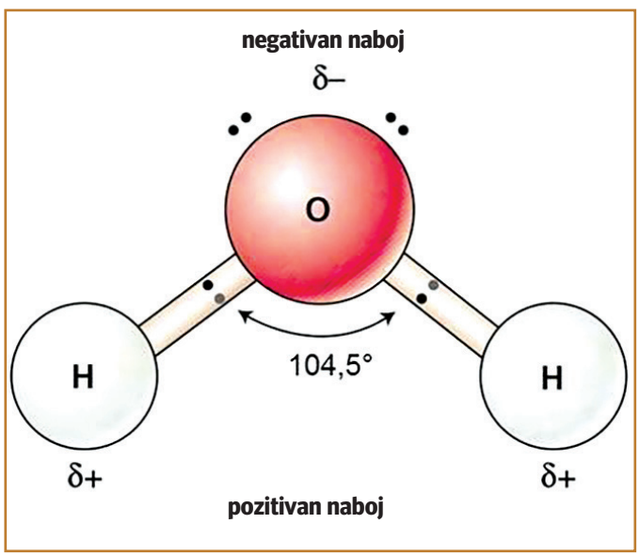
Uvod

Život na Zemlji nastao je u vodi i ovisi o vodi koja je nužna za život svih bića. Biljke neprekidno primaju i izlučuju vodu koja u biljnom organizmu ima niz biokemijskih i fizioloških funkcija. Biljne vrste, kao i pojedini biljni dijelovi razlikuju se u pogledu potrebe za vodom. Od svih čimbenika koji utječu na rast i razvoj biljke, voda je najvažniji i najčešći ograničavajući čimbenik. Osim kao univerzalno otapalo, voda ima ulogu sličnu biljnim hranjivima, npr. u procesu fotosinteze, gdje je izvor vodika. U procesu fotosinteze biljke iz atmosfere primaju i ugrađuju CO_2 u organsku tvar. Usporedno s primanjem CO_2, biljke difuzijom gube vodu. Taj se proces naziva transpiracija. Za svaki gram organske tvari koja se proizvede u fotosintezi biljka mora primiti, transportirati i izlučiti između 200 i 1000 g vode, ovisno o specifičnosti pojedine vrste.

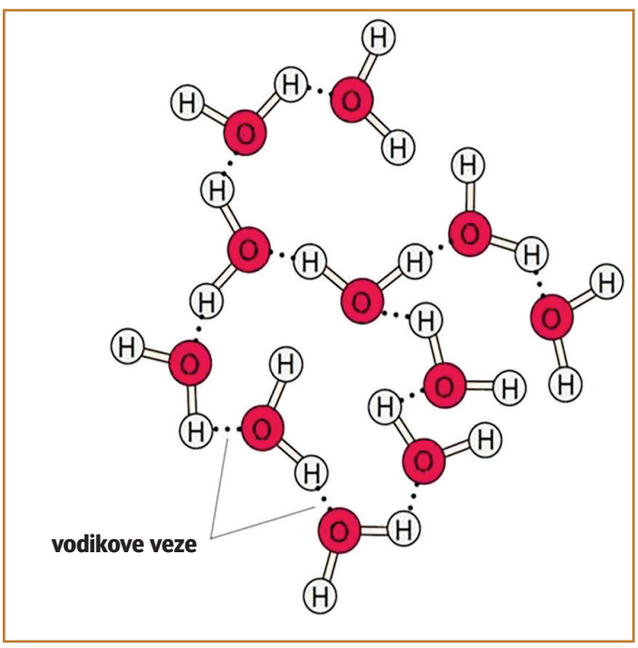
U ovom će se poglavlju objasniti svojstva vode te osnovni fizikalni procesi koji omogućuju primanje vode iz tla korijenom, njezin transport u biljnim tkivima te izlučivanje vode iz biljnog organizma. Objasnit će se mehanizmi ulaska vode u stanicu, mehanizmi prijenosa vode u biljci na kratke i velike udaljenosti, specifičnost biljnih tkiva uključenih u transport vode, mehanizmi izlučivanja vode iz biljke i općenita uloga vode u biljnom organizmu.

2.1. Struktura i svojstva vode

Fiziološke funkcije vode u biljci temelje se na specifičnoj strukturi i fizikalnim svojstvima vode. Molekula vode (H_2O) građena je od jednog atoma kisika povezanog kovalentnim vezama s dva atoma vodika između kojih je kut od 104,5° (**Slika 2.1.**). Takva građa odgovorna je za pojavu polarnosti, jednog od najvažnijih svojstava vode. Uz navedeno, na pojavu polarnosti utječe nejednolik raspored naboja u molekuli vode. Kisik je elektronegativniji od vodika i privlači elektrone iz kovalentne veze te se u molekuli vode javljaju dva pola; parcijalno negativan električni naboj na mjestu kisika i parcijalno pozitivan na mjestu vodika (**Slika 2.1.**). Negativan naboj uz atom kisika i pozitivan naboj uz atom vodika poništavaju se, pa je molekula vode elektroneutralna, no suprotni naboji na suprotnim stranama molekule (polarnost) omogućuju stvaranje vodikovih veza (**Slika 2.2**.) Vodikove veze mogu se stvarati i između molekula vode i molekula drugih tvari koje imaju neravnomjernu raspodjelu električnog naboja.



Slika 2.1. Molekula vode. Kovalentne veze između atoma kisika i dva atoma vodika zatvaraju kut od 104,5°. Negativni i pozitivni naboji (δ- i δ+) na suprotnim stranama molekule vode omogućuju stvaranje vodikovih veza između molekula vode.



Slika 2.2. Stvaranje vodikovih veza između molekula vode

Polarnost čini vodu najraširenijim i najvažnijim otapalom u prirodi. Svojstvo polarnosti omogućuje otapanje ionskih tvari i organskih molekula koje sadrže polarne skupine ($-OH^-$, $-NH_4^+$, $-COO^-$). Vodikove veze koje se stvaraju između molekula vode i iona/polarnih tvari smanjuju elektrostatske interakcije između tvari koje nose naboj i time omogućuju njihovo otapanje. Polarni dijelovi molekule vode mogu stvarati vodeni omotač (hidratacijski plašt) oko nabijenih dijelova makromolekula, čime se smanjuju interakcije i povezivanje makromolekula, a time povećava njihova topivost u vodi.

Stvaranje vodikovih veza između molekula vode rezu-

ltira specifičnim toplinskim svojstvima vode, kao što su specifični toplinski kapacitet i latentna temperatura isparavanja.

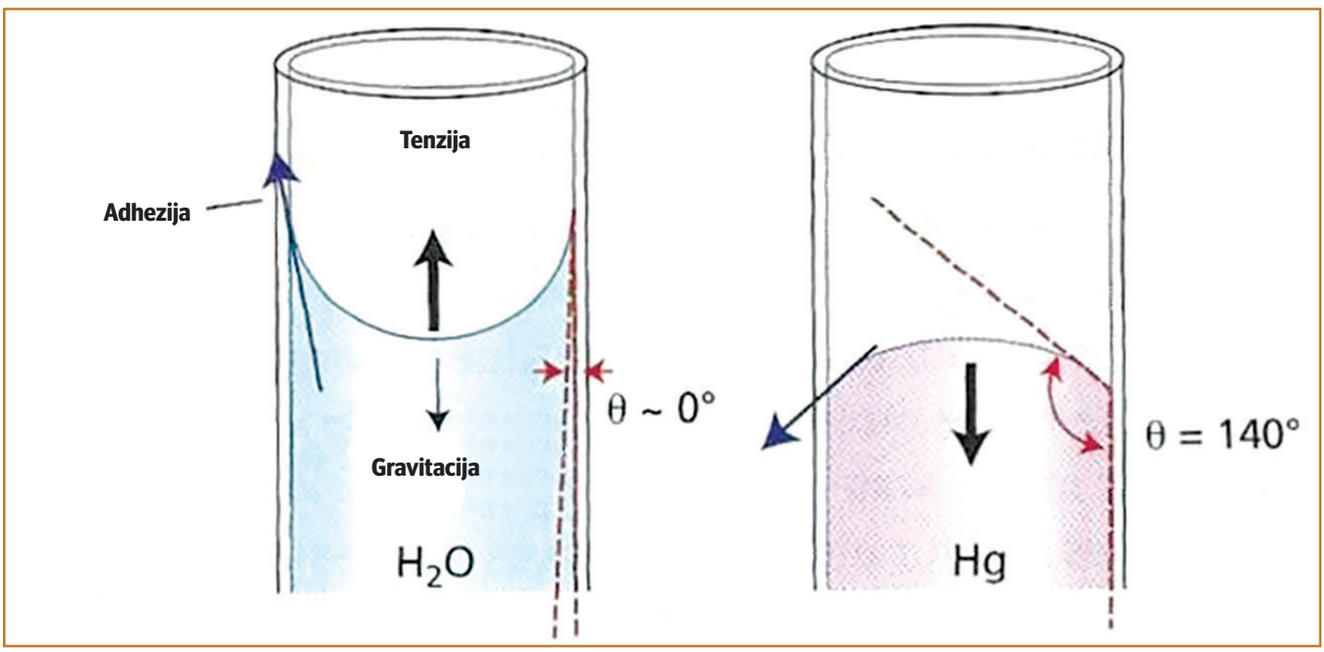
Zbog velikog broja vodikovih veza koje povezuju njene molekule, voda može apsorbirati toplinu bez velikih promjena temperature, što je čini idealnim medijem za termoregulaciju. Povećanjem temperature ubrzava se gibanje molekula vode, a za kidanje vodikovih veza potrebno je utrošiti energiju. U usporedbi s drugim tekućinama, za povećanje temperature vode treba uložiti relativno veliku količinu energije. Iz ove činjenice proizlazi jedna od osnovnih funkcija vode u biljci, a to je reguliranje temperature biljke (termoregulacija).

Latentna toplina isparavanja je energija potrebna za kidanje vodikovih veza i prijelaz molekula vode iz tekuće u plinovitu fazu. Toplinska energija koju treba uložiti da bi došlo do isparavanja vode, pri temperaturi vode od 25 °C, iznosi 44 kJ mol^{-1}, što je najviša poznata toplinska energija potrebna za isparavanje tekućina. Visoka latentna toplina isparavanja vode omogućuje biljkama učinkovito hlađenje, što se događa tijekom isparavanja vode s površine lista, odnosno tijekom procesa transpiracije.

Na granici između vode i zraka molekule vode jače se vežu jedna za drugu nego što se vežu za plinove u zraku. Posljedica tih nejednoliko jakih veza između molekula vode i zraka je maksimalno smanjenje dodirne površine vode sa zrakom pa stoga voda u zraku tvori okrugle oblike – kapi, a u kapilarama (uskim cjevčicama, porama) tvori meniskuse (**Slika 2.3.**). Ta se pojava naziva površinska napetost vode. Da bi se povećala dodirna površina između vode i zraka potrebno je prekinuti vodikove veze između molekula vode, za što treba uložiti energiju, a ta energija predstavlja površinsku napetost. Površinska napetost ima važnu ulogu u transportu (kretanju) vode u sustavu tlo-biljka-atmosfera.

Uz površinsku napetost, u transportu vode važne su sile kohezije i adhezije. Kohezija je sila kojom se međusobno privlače molekule vode, dok adhezija uzrokuje priljubljivanje molekula vode uz neku drugu čvrstu tvar (npr. staničnu stijenku). Kohezija, adhezija i tenzija omogućuju pojavu kapilarnosti, odnosno dizanja stupca vode kroz usku cijev – kapilaru, pri čemu je razina vode u kapilari viša u usporedbi s razinom vode u izvoru koji opskrbljuje kapilaru (**Slika 2.3.**). Kapilarnost se događa u raznim medijima (tlu, tkivu korijena/stabljike) zbog: 1) privlačne sile koja djeluje između molekula vode i stijenke kapilare (adhezije), 2) privlačne sile koja vlada između molekula vode (kohezije) i 3) površinske napetosti vode. Adhezija i površinska napetost zajedno povlače stupac vode u kapilari omogućujući mu kretanje prema gore. Visina stupca vode ovisi o njegovoj masi te će se stupac vode podizati kroz kapilaru sve dok se ne izjednače masa stupca vode s djelovanjem sila površinske napetosti i adhezije.

Što je kapilara uža, stupac vode u njoj bit će viši, jer će imati manju masu, a adhezija i površinska napetost bit će veće.



Slika 2.3. Kapilarnost različitih tekućina u okomito postavljenim cjevčicama (kapilarama). U lijevoj cjevčici (voda na čistom staklu ima kut prianjanja ≈ 0°) adhezija privlači molekule vode na staklenu stijenku (voda se „penje“ uz stijenke), a kohezija međusobno privlači molekule vode i time stvara površinsku napetost koja povlači stupac vode prema gore. U desnoj cjevčici (živa na čistom staklu ima kut prianjanja ≈ 140°) adhezija odbija molekule žive te linije meniskusa imaju opadajući trend, a površinska napetost smanjuje razinu tekućine u cjevčici

2.1.1. Difuzija

Molekule vode u otopini nisu statične, nego se stalno gibaju i međusobno sudaraju, pri čemu prenose kinetičku energiju s jedne molekule na drugu. Sve dok na otopinu ne djeluje neka druga sila, **difuzija uzrokuje kretanje molekula iz područja veće koncentracije u područje manje koncentracije, odnosno niz koncentracijski gradijent** (**Slika 2.4.**).

Pri tom miješanju molekule tekućina ili plinova **ne stupaju u kemijsku reakciju**. Brzina difuzije proporcionalna je koncentracijskom gradijentu ili razlici u koncentracijama dviju tvari (Fickov prvi zakon).

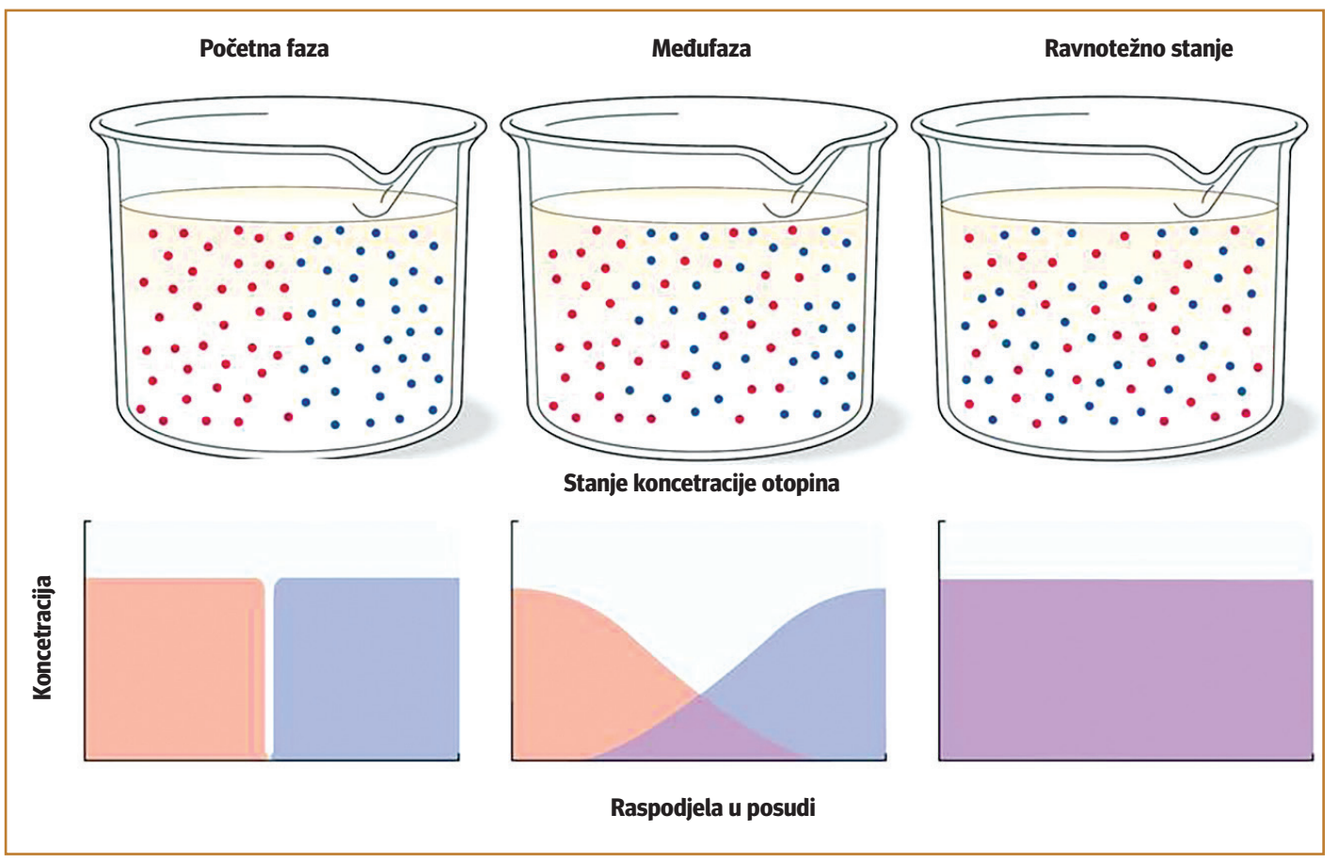
Brzinu difuzije tvari opisuje koeficijent difuzije (D_s) koji je ovisan o:

1) veličini tvari (veće tvari imaju manji koeficijent difuzije, tj. sporije se kreću)

2) vrsti medija (difuzija u zraku brža je od difuzije u tekućini)

3) temperaturi (više temperature ubrzavaju difuziju).

Difuzija je važna za prijenos tvari **na kratke udaljenosti** (npr. između susjednih stanica), ali je taj transport prespor kad se radi o prijenosu na velike udaljenosti (npr. od korijena do lista). Primjerice, koeficijent difuzije za glukozu u vodenoj otopini iznosi 10^{-9} m^2 s^{-1}, te je molekuli glukoze potrebno prosječno 2,5 s da bi difundirala (prošla) kroz biljnu stanicu, prosječnog promjera 50 μm. Međutim, za prijelaz puta od jednog metra molekuli glukoze u vodi potrebne su 32 godine.



Slika 2.4. Difuzija. Molekule tekućina ili plinova kreću se pasivno, bez utroška energije, iz područja svoje veće koncentracije u područje manje koncentracije do izjednačenja koncentracija

2.1.2. Maseno strujanje

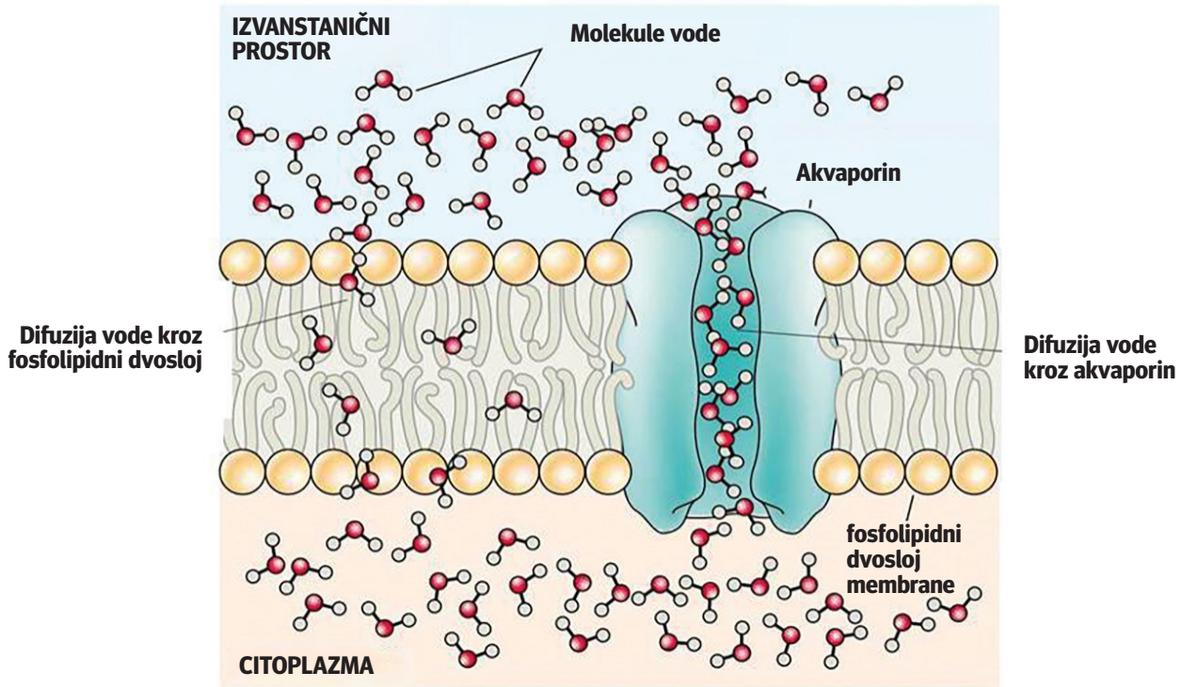
Za razliku od difuzije koju pokreće razlika u koncentraciji (koncentracijski gradijent), maseno strujanje (engl. ***mass flow*** ili ***bulk flow***) **predstavlja zajedničko kretanje skupine (mase) molekula vode i najčešće je uzrokovano razlikama u tlaku (gradijentom tlaka)**. Primjeri masenog strujanja izvan biljnog organizma su strujanje vode kroz prirodne (rijeke, potoci) i/ili umjetne vodotoke te strujanje podzemne vode. Kod biljaka maseno je strujanje odgovorno za kretanje vode na velike udaljenosti (o čemu će biti riječi nešto kasnije).

2.1.3. Osmoza

Stanična membrana (plazmalema) građena je po modelu tekućeg mozaika (***poglavlje 1.2.2.***; **slike 1.3. i 1.4.**), a sastoji se od fosfolipidnog dvosloja s integralnim i perifernim proteinima. Iz takve specifične građe proizlazi svojstvo **selektivne propusnosti** (permeabilnosti), osnovno svojstvo stanične membrane. Voda i u njoj otopljene male nenabijene čestice lako prolaze kroz staničnu membranu, dok velike otopljene tvari te tvari koje nose naboj ne mogu proći kroz nju. **Difuzija vode kroz selektivno permeabilnu staničnu membranu naziva se osmoza**. Osmozu pokreće **gradijent vodnog potencijala**. Poput difuzije i masenog strujanja, osmoza se također javlja spontano (pasivni proces), tj. bez utroška

energije. Kod osmoze oba gradijenta (**koncentracijski i gradijent tlaka**) utječu na kretanje vode.

Način prijenosa vode kroz staničnu membranu dugo je bio nepoznat. Bilo je nejasno je li kretanje vode u stanicu ograničeno na difuziju kroz dvosloj fosfolipida ili su u taj proces uključeni proteinski kanalići (akvaporini) (**Slika 2.5.**). Pronalaskom akvaporina (AQP1), integralnih membranskih proteina, potvrđena je njihova uloga selektivnih vodopropusnih kanala. Difuzija vode kroz takve kanaliće mnogo je brža u usporedbi s difuzijom vode kroz dvosloj fosfolipida. Iako akvaporini olakšavaju ulazak vode u stanicu, oni ne utječu na smjer kretanja vode. Međutim, akvaporini se mogu zatvoriti pod utjecajem intercelularnih signala (npr. promjena pH ili koncentracije Ca^{2+}) te tako biljka može regulirati permeabilnost membrane za vodu.



Slika 2.5 Molekule vode prelaze membranski fosfolipidni dvosloj pojedinačno (difuzijom) ili skupno kroz poru integralnih membranskih proteina (akvaporina)

2.2. Vodni potencijal u sustavu tlo-biljka-atmosfera

Na svom putu iz tla, preko korijena, stabljike i lista do atmosfere voda prolazi različite medije (stanične stijenke, fosfolipidni dvosloj - membrane, citoplazmu i dr.), a mehanizmi prijenosa razlikuju se ovisno o vrsti medija kroz koji prolazi. Voda se u prirodi kreće niz gradijent vodnog potencijala (iz područja višeg vodnog potencijala u područje nižeg vodnog potencijala). Vodni potencijal otopine ovisi o većem broju čimbenika (ponajviše o tlaku i koncentraciji) te će se stoga promjene vodnog potencijala, a posljedično i kretanje vode u prirodi javljati zbog promjena tih čimbenika. U nastavku je pojašnjen koncept vodnog potencijala, a zatim i osnovni procesi kretanja vode u sustavu tlo-biljka-atmosfera.

Vodni potencijal (Ψ_w) je kemijski potencijal vode. **Kemijski potencijal vode ili vodni potencijal je relativna veličina, a predstavlja razliku između potencijala vode u određenim uvjetima i potencijala vode u standardnim uvjetima. Vodni potencijal opisuje slobodnu energiju po jedinici volumena vode u otopini u odnosu na standardno stanje vode**. Slobodna energija čiste vode u standardnim uvjetima iznosi **0 MPa**. Vodni potencijal moguće je izraziti kao sumu triju parcijalnih potencijala: **osmotskog (Ψ_Π), hidrostatskog (Ψ_p)** i **gravitacijskog (Ψ_g)** (izraženo u J m^{-3} ili Pa), kao što je prikazano jednadžbom:

$$\Psi_w = \Psi_\Pi + \Psi_p + \Psi_g$$

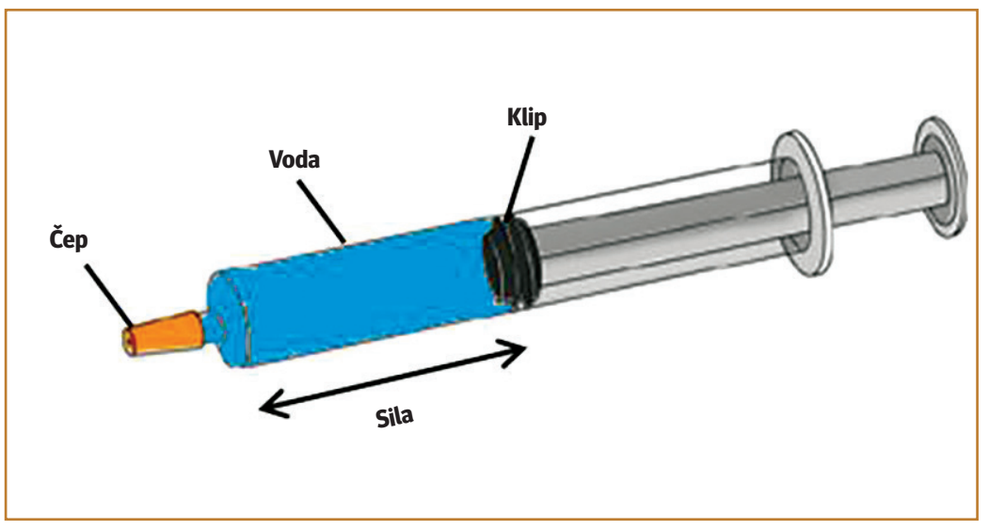
Gravitacijski potencijal u tlu uzrokuje kretanje vode prema dolje (procjeđivanje vode) ako joj se ne suprotstavi neka sila jednake jačine. Gravitacijski potencijal ovisi o promjeni visine u odnosu na referentnu vrijednost (razina mora, odnosno 0 MPa). Utjecaj gravitacije na vodni potencijal tla najizraženiji je nakon oborina (ili navodnjavanja), a s vremenom njegov utjecaj postupno slabi jer ga nadvladavaju sile vezane uz vododržnost tla (matrični potencijal tla). U biljci je na staničnoj razini utjecaj gravitacije zanemariv u odnosu na preostala dva potencijala (Ψ_Π i Ψ_p) te je moguće vodni potencijal biljke izraziti pojednostavljenom jednadžbom u kojoj ovisi o osmotskom i hidrostatskom potencijalu.

$$\Psi_w = \Psi_\Pi + \Psi_p$$

Osmotski (koncentracijski) potencijal predstavlja utjecaj koncentracije otopljenih tvari na vodni potencijal otopine. Osmotski potencijal ovisi o promjeni koncen-

tracije u odnosu na referentnu vrijednost (koncentraciju otopljenih tvari u čistoj vodi = 0 MPa). Otopljene tvari smanjuju slobodnu energiju vode zato što stupaju u interakciju s molekulama vode (npr. ioni oko sebe stvaraju hidratacijske plašteve). To je učinak entropije, odnosno otapanjem tvari u vodi povećava se nered u sustavu i smanjuje se slobodna energija vode. Stoga, u usporedbi s vodnim potencijalom čiste vode (0 MPa), otapanje tvari u vodi snižava vodni potencijal. Drugim riječima, osmotski potencijal ima negativni učinak na ukupni vodni potencijal (Ψ_w) određenog sustava (tla ili biljke). Koncentracija otopljenih tvari u otopini tla vrlo je niska, stoga je osmotski potencijal otopine tala gotovo zanemariv te iznosi oko -0,02 MPa (ako nije riječ o zaslanjenim tlima). Međutim, u tlima s visokom koncentracijom otopljenih tvari (npr. zaslanjena tla) osmotski potencijal može biti niži i od -0,2 MPa.

Hidrostatski potencijal predstavlja učinak hidrostatskog tlaka te može imati pozitivan ili negativan učinak na vodni potencijal (**Slika 2.6.**). Pozitivan hidrostatski tlak povećava, a negativan tlak (podtlak) smanjuje vodni potencijal. Primjerice, pozitivan hidrostatski tlak nastaje u površinskom sloju tla nakon oborina ili ulaskom vode u stanicu i pritiskom protoplasta na staničnu stijenku (**turgor**). Negativna vrijednost hidrostatskog potencijala javlja se, primjerice, isparavanjem vode iz lista; tada se na površini vodenih filmova u mezofilu lista stvaraju meniskusi koji u kapilarama ksilema, zbog površinske napetosti, podižu stupac vode prema gore, što se naziva tenzija. Negativan hidrostatski potencijal u tlu nastaje nakon procjeđivanja (oborinske) vode u potpovršinske horizonte tla te nakon duljeg razdoblja izostanka oborina ili navodnjavanja. Primjerice, u trenutku potpune saturacije tla vodom (sve makro/mikro pore tla ispunjene su vodom) hidrostatski tlak je 0 MPa. Tijekom vremena, voda se iz makropora i mikropora, zbog gravitacije (Ψ_g), procjeđuje u dublje slojeve, a pod utjecajem topline isparava iz tla u atmosferu, pri čemu granični sloj između zraka i vode postaje sve zakrivljeniji, tj. privlačne sile između čestica tla i vode (adhezija) i površinska napetost rastu, a u vodi se javlja sve negativniji hidrostatski potencijal (Ψ_p). U vrlo sušnim uvjetima vodni potencijal tla može pasti ispod tzv. **ireverzibilne točke venuća**. Ireverzibilna točka venuća je vrijednost vodnog potencijala tla kod kojeg biljke venu i ne mogu obnoviti svoj turgorski tlak. U toj je točki vrijednost vodnog potencijala tla (Ψ_w) jednaka ili niža od vrijednosti osmotskog potencijala biljke ($\Psi_П$). Kako se osmotski potencijal stanica razlikuje kod različitih biljnih vrsta, tako ireverzibilna točka venuća ne ovisi samo o sadržaju vode u tlu, nego i o biljnoj vrsti.



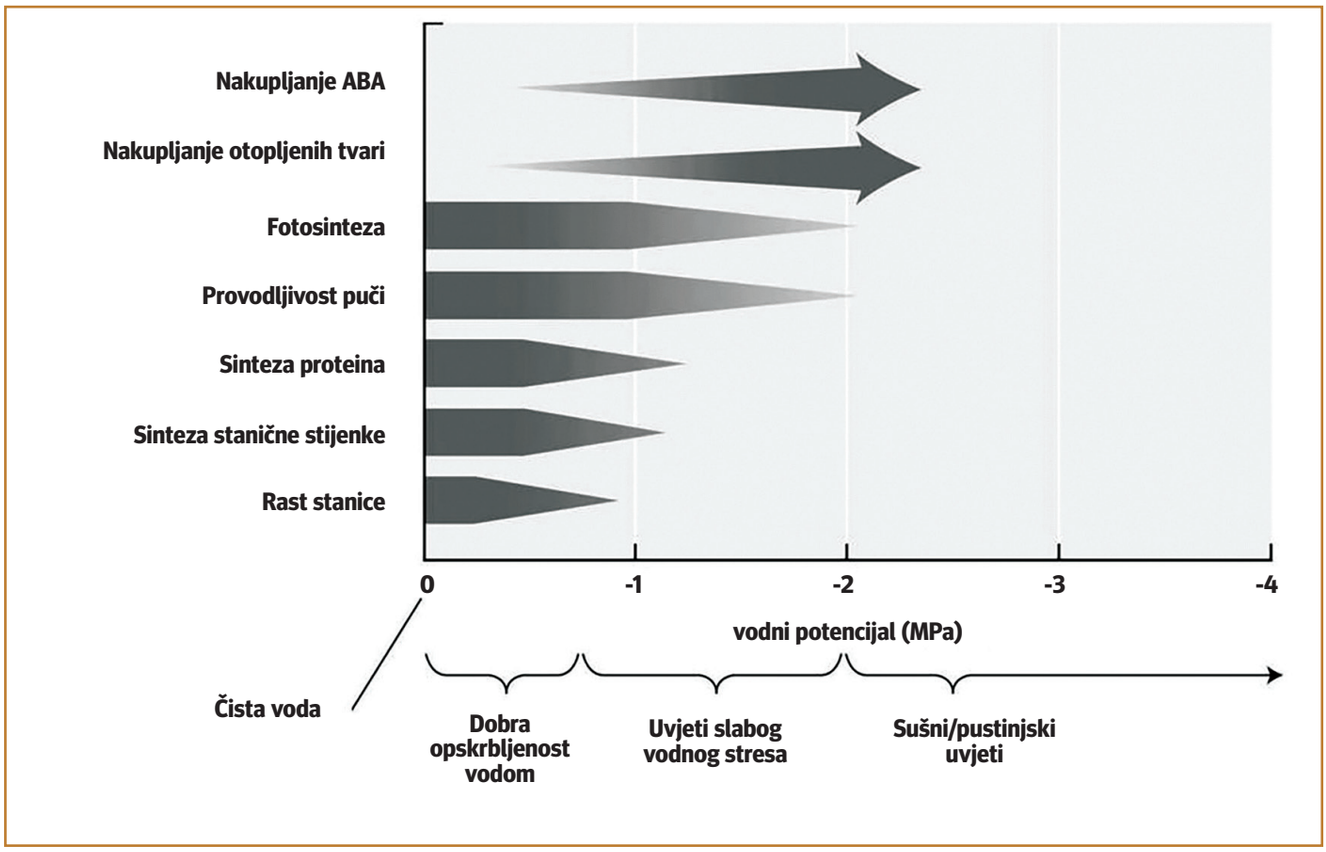
Slika 2.6. Prikaz pozitivnog i negativnog hidrostatskog tlaka. Začepljena šprica može poslužiti za izazivanje pozitivnog ili negativnog hidrostatskog tlaka vode. Pritiskom na klip vrši se pritisak na vodu i povećava se pozitivni hidrostatski tlak vode. Povlačenjem klipa smanjuje se hidrostatski tlak vode te se javlja tenzija ili negativni hidrostatski tlak. Ako se u šprici nalazi mjehurić zraka, njegov će volumen rasti sa smanjenjem hidrostatskog tlaka (vidi pojavu kavitacije u ksilemu)

Ovisno o stanju vodnog potencijala tla, moguće su određene promjene u vodnom potencijalu biljke (**Slika 2.7.**). Koncept vodnog potencijala ima dvije osnovne uloge:

1) vodni potencijal regulira kretanje vode kroz staničnu membranu i
2) vodni potencijal često se koristi kao mjera vodnog statusa biljke.

Vodni status poljoprivrednih kultura često nije optimalan (posebice ako se ne primjenjuje navodnjavanje) zbog velikih gubitaka vode uslijed transpiracije. Tijekom sušnih razdoblja, odnosno kada je vodni potencijal tla manji od lentokapilarne točke (-0,625 MPa), u biljkama se događaju određene fiziološke promjene (**Slika 2.7.**) jer su izložene nedostatku lako pristupačne vlage tla (vodnom stresu). Lentokapilarna vlažnost (točka) je granica između vezane vode i vode koja se slobodno giba u tlu; ona predstavlja donju granicu optimalne vlažnosti tla i odgovara tenziji od -0,625 MPa (-6,25 bara ili 6250 cm stupca vode).

Osjetljivost pojedinog fiziološkog procesa na nedostatak vode ovisi o mehanizmima prilagodbe biljaka na različitu dostupnost vode. Prvi proces koji je inhibiran nedostatkom vode je rast stanica, posebice listova, te određena ograničenja fizioloških procesa (**Slika 2.7.**). Vrijednosti vodnog potencijala kod kojih dolazi do inhibicije određenih fizioloških procesa razlikuju se kod pojedinih biljnih vrsta. Vodni potencijal u listovima biljaka dobro opskrbljenih vodom iznosi između -0,2 i -0,6 MPa, dok vodni potencijal u listovima kserofita (biljaka aridnih ekosustava) može pasti i do -5 MPa (**Slika 2.7.**).



Slika 2.7. Osjetljivost pojedinih fizioloških procesa u biljci na promjene (pad) vodnoga potencijala. Duljina i intenzitet obojenja histograma odgovaraju intenzitetu odvijanja procesa. Primjerice, rast stanice se usporava, dok se sinteza i akumulacija apscizinske kiseline (ABA; fitohormon koji regulira zatvaranje puči u uvjetima nedostatka vode) povećava s padom vodnog potencijala biljke

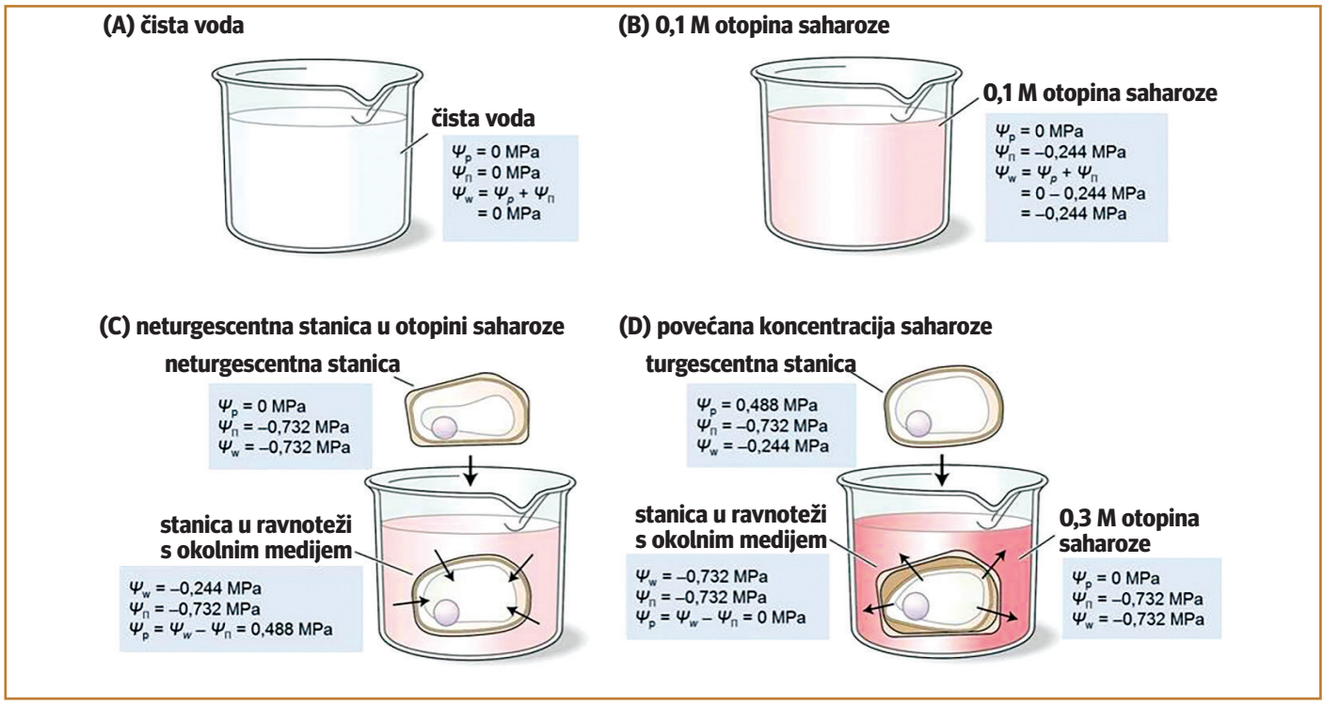
2.3. Voda u biljci

2.3.1. Princip ulaska vode u stanicu

Voda ulazi u stanice korijena zbog razlike u vodnom potencijalu između izvanstaničnog (otopine tla) i unutarstaničnog (citosola) medija. Ulazak vode u stanicu moguće je objasniti na primjeru osmometra. Ako se čista voda ulije u otvorenu posudu pri 20 °C, tada je hidrostatski tlak vode jednak atmosferskom (Ψ_p = 0 MPa) (**Slika 2.8.A**). Budući da je riječ o čistoj vodi bez otopljenih tvari, njen osmotski potencijal jednak je nuli (Ψ_Π = 0 MPa) te je i vodni potencijal jednak nuli ($\Psi_w = \Psi_\Pi + \Psi_p$ = 0 MPa). Otopimo li saharozu u vodi te dobijemo 0,1 M otopinu saharoze, mijenjamo osmotski potencijal otopine i time snižavamo vodni potencijal (**Slika 2.8.B**). Vodni potencijal nastale otopine manji je od 0 MPa te njegova vrijednost ima negativan predznak (u ovom slučaju Ψ_w = -0,244 MPa). Slično se ponaša i biljna stanica koja sadrži različite otopljene tvari (npr. u koncentraciji od 0,3 M) te joj je osmotski potencijal negativan (npr. Ψ_Π = -0,732 MPa). Ako je riječ o stanici uvele biljke (neturgescentna stanica), tada je hidrostatski potencijal jednak nuli (Ψ_p = 0 MPa), a vodni potencijal takve stanice jednak je osmotskom potencijalu ($\Psi_w = \Psi_\Pi$ = -0,732 MPa) (**Slika 2.8.D**).

Premjestimo li takvu stanicu u posudu s 0,1 M otopinom saharoze, dolazi do ulaska vode iz posude u stanicu (**Slika 2.8.C**). Do ulaska vode dolazi zato što je vodni potencijal 0,1M otopine saharoze veći (Ψ_w = -0,244 MPa) od vodnog potencijala stanice (Ψ_w = -0,732 MPa). Voda se kreće iz područja većeg vodnog potencijala u područje manjeg vodnog potencijala, tj. niz gradijent vodnog potencijala. Zbog čvrstoće stanične stijenke koja okružuje biljnu stanicu vrlo male promjene volumena stanice izazivaju velike promjene hidrostatskog tlaka u njoj. Ulaskom vode u stanicu, povećava se volumen protoplasta, a stanična membrana rasteže se i "pritišće" staničnu stijenku. **Hidrostatski tlak koji raste ulaskom vode u stanicu naziva se turgor** (turgorski tlak). Porastom hidrostatskog tlaka (Ψ_p) u stanici raste i njezin vodni potencijal (Ψ_w), a razlika u vodnom potencijalu između stanice i vanjske otopine se smanjuje (smanjuje se gradijent vodnog potencijala). **Voda ulazi u stanicu dok god se vodni potencijal stanice i okolne otopine ne izjednače.** U slučaju većih razlika u vodnom potencijalu, ne bi došlo do njihova izjednačenja, zbog postojanja stanične stijenke i razvoja turgora. Naime, stanična stijenka postigla bi maksimalnu napetost, tj. u stanici bi bio maksimalni turgor.

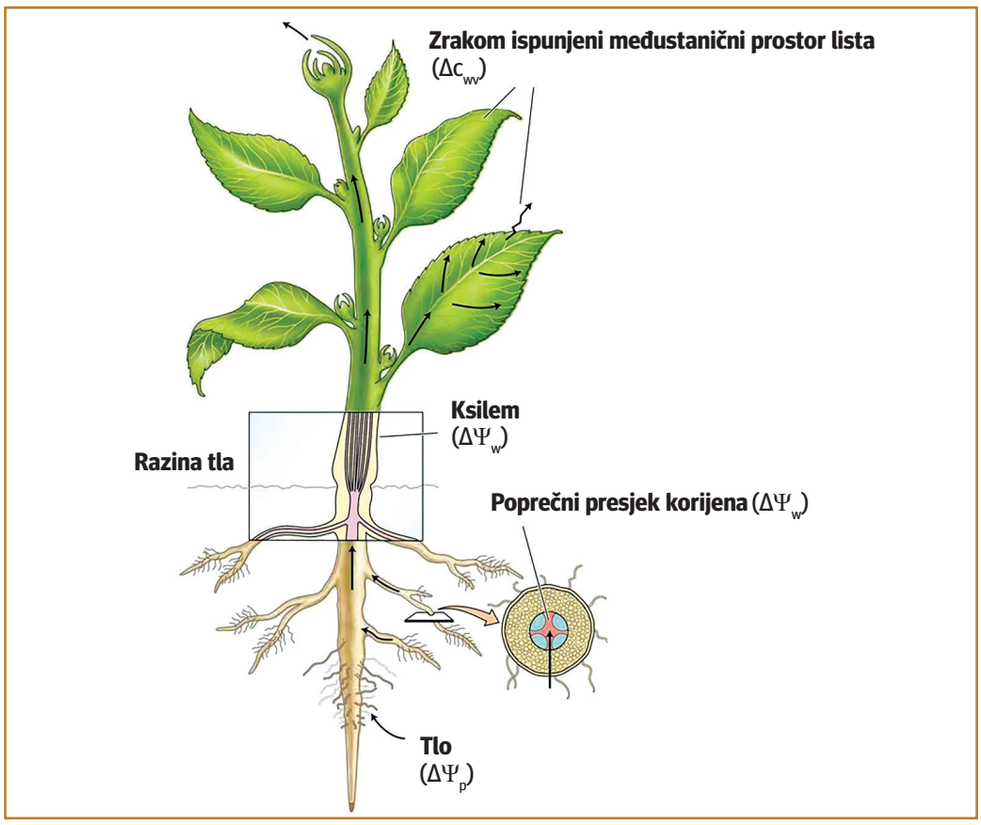
Zbog velikog volumena vode u posudi mala količina vode koja uđe u stanicu ne uzrokuje promjene koncentracije otopine saharoze. Odnosno, u otopini saharoze ne dolazi do promjena hidrostatskog (Ψ_p) i osmotskog (Ψ_Π), kao ni vodnog potencijala (Ψ_w). Ravnoteža pri kojoj nema kretanja vode postiže se kod jednakosti: $\Psi_{w(\text{stanice})} = \Psi_{w(\text{otopine saharoze})}$ = -0,244 MPa.



2.8. Koncept vodnog potencijala i njegove komponente. Vodni potencijal čiste vode je 0 MPa (A). Otapanje saharoze u vodi (0,1 M otopina) utječe na osmotski potencijal, a time se mijenja i vodni potencijal. Osmotski potencijal ima negativan učinak na vodni potencijal, tj. snižava vodni potencijal te on postaje negativan (B). Neturgescentna stanica koja se uranja u 0,1 M otopinu saharoze ima manji vodni potencijal od otopine saharoze te voda ulazi u stanicu (C). Ulaskom vode u stanicu povećava se volumen stanice, stanični sadržaj „pritišće" staničnu stijenku, što izaziva pojavu pozitivnog hidrostatskog tlaka (turgora) te dolazi do povećanja vodnog potencijala. Voda ulazi u stanicu dok god se vodni potencijal stanice ne izjednači s vodnim potencijalom otopine saharoze. Povećanje koncentracije saharoze u otopini (0,3 M otopina) izaziva smanjenje vodnog potencijala otopine i hidrostatskog tlaka stanice (turgora) te izlazak vode iz turgescentne stanice (D).

2.3.2. Primanje vode korijenom

U površinskim horizontima propusnih tala voda se kreće dominantno **masenim strujanjem**. Međutim, kada voda u tlu dođe u kontakt s površinom korijena, mehanizmi kretanja vode znatno se mijenjaju (**Slika 2.9.**). Građa korijena (**Slika 2.10.**) omogućava uspješno primanje vode iz tla i njezin prijenos do **ksilema**, provodnog tkiva zaduženog za prijenos vode iz korijena u nadzemne organe (prijenos vode na velike udaljenosti). Za primanje (apsorpciju) vode korijenom nužan je kontakt između korijena i vodene faze tla. Dodirna površina između korijena i tla povećava se rastom korijena i korijenovih dlačica. **Korijenove dlačice** su izrasline rizoderme (epiderma korijena) koje pov-



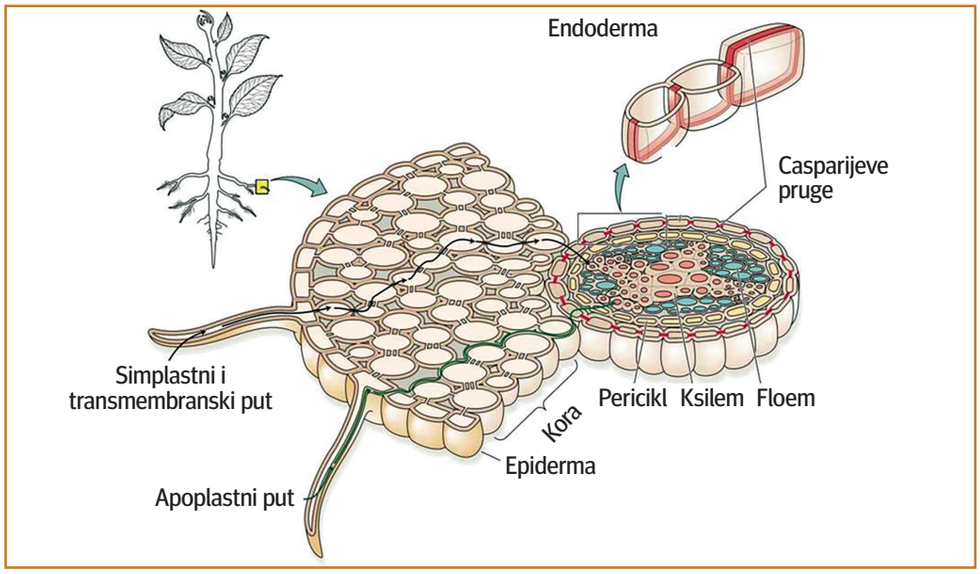
Slika 2.9. Pogonske sile za kretanje vode u sustavu tlo-biljka-atmosfera (kretanje vode označeno strelicama): razlika u koncentraciji vodene pare (Δc_{wv}), razlika u hidrostatskom tlaku ($\Delta\Psi_p$) i razlika u vodnom potencijalu ($\Delta\Psi_w$).

ećavaju površinu korijena i time povećavaju kapacitet korijena za apsorpciju vode i mineralnih tvari. **Voda ulazi u korijen u zoni rasta korijenovih dlačica i u zoni korijenova vrha. Stariji dijelovi korijena često su nepropusni za vodu.** Pukotine u kori korijena, kao i rast sekundarnog (bočnog) korijenja omogućuju primanje vode i starijim dijelovima korijena. Dva su puta kojima se voda kreće kroz korijen od epiderme (rizoderme) do endoderme korijena:

1) apoplastni put

2) stanični put (ima dvije komponente – simplastni i transmembranski put).

U apoplastnom putu voda prolazi isključivo kroz međusobno povezane prostore staničnih stijenki i međustanične prostore (intercelularne prostore), dok u staničnom putu voda prolazi kroz protoplaste. Stanični put ima dvije komponente: **simplastni put**, u kojem voda iz stanice u stanicu prolazi kroz plazmodezmije, i **transmembranski put**, u kojem voda prolazi iz stanice u stanicu preko plazmatske membrane (**Slika 2.10.**).



Slika 2.10. Primanje i prijenos vode korijenom. Biljka prima vodu korijenom i provodi je do središnjeg provodnog cilindra koji čine provodna tkiva ksilema i floema. Provodni cilindar od kore korijena odvojen je stanicama endoderme, u čijim se stijenkama nalazi suberin (koji se nakon bojenja histološkim bojama vidi kao Casparijeva pruga). Suberin sprečava prolaz vode kroz endodermu apoplastnim putem, pa voda taj dio puta prolazi staničnim putem. Voda se od endoderme do provodnih elemenata ksilema može kretati kroz stanične stijenke (apoplastnim putem) ili protoplastima stanica korijena (simplastnim putem).

Apoplastni put kretanja vode kroz korijen, od epiderme, preko kore do endoderme korijena, predstavlja kretanje vode kroz međusobno povezane prostore staničnih stijenki i međustanične prostore, pri čemu voda ne ulazi u stanice, odnosno ne prelazi njihove membrane. Apoplast je neživi dio biljke koji čine međusobno povezani prostori staničnih stijenki, međustaničnih prostora i šupljih elemenata ksilema, koji pružaju vrlo malo otpora kretanju vode te se stoga najviše vode transportira upravo tim prostorima. Apoplastni se put prekida na endodermi korijena (**Slika 2.10.**). Suberin koji se nalazi u staničnim stijenkama stanica endoderme korijena onemogućuje daljnje kretanje vode apoplastom. Casparijeve pruge su radijalni pojasevi (prsteni) u staničnim stijenkama endoderme korijena, izgrađeni od suberina koji predstavlja nepropusnu barijeru kretanju vode i mineralnih tvari. One prekidaju apoplastni put vode te voda mora ući u stanice endoderme prelaskom stanične membrane (transmembranski put).

Simplastni put kretanja vode odvija se iz stanice u stanicu kroz plazmodezmije, pri čemu voda ne prelazi stanične membrane. Za razliku od apoplasta, simplast je živi dio biljke sastavljen od međusobno povezanih citoplazmi stanica uz pomoć plazmodezmija koje prorastaju stanične stijenke međusobno povezujući stanice u simplast. Pri kretanju vode apoplastom i simplastom, voda ne prelazi staničnu membranu, stoga je sila koja uvjetuje takvo kretanje vode razlika u hidrostatskom potencijalu (gradijentu hidrostatskog tlaka).

Transmembranski put predstavlja kretanje vode iz stanice u stanicu pri čemu voda prelazi stanične membrane, pri ulasku u stanicu i izlasku iz nje. Transmembranski put uključuje i ulazak vode u vakuolu, odnosno transport vode kroz tonoplast. Zbog toga što transmembranski put uključuje transport vode preko biomembrana, osnovna pokretačka sila za kretanje vode je gradijent vodnog potencijala.

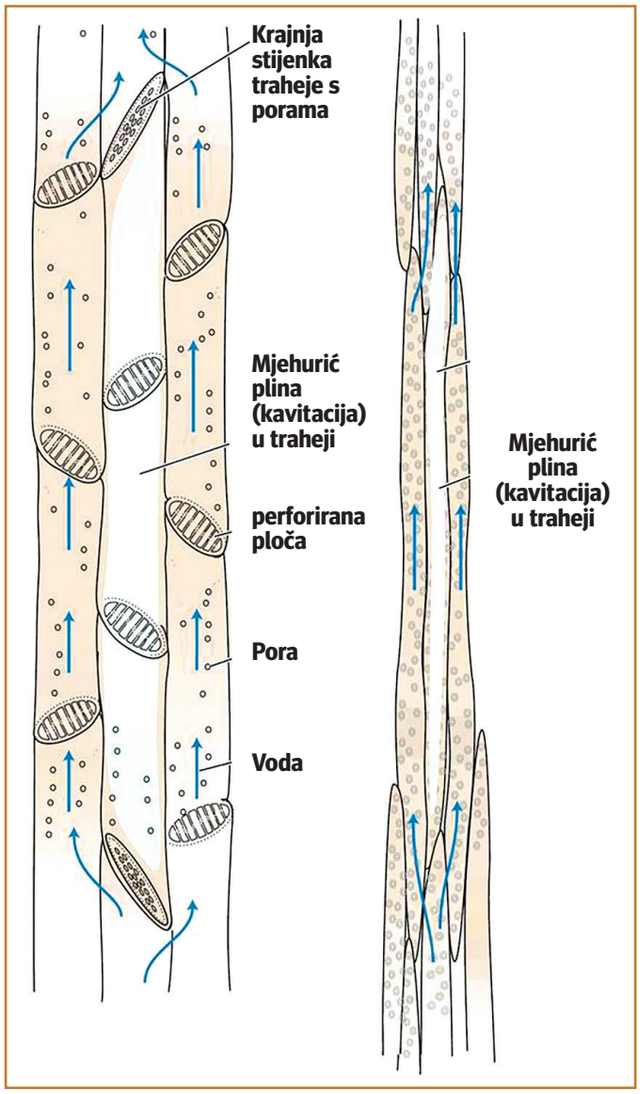
2.3.3. Transport vode ksilemom

Ksilemski transport vode predstavlja najdulji put kojim se voda prenosi u biljci (transport na velike udaljenosti). Više od 99% ukupnog transporta vode u biljci odvija se ksilemom. U usporedbi s transportom vode kroz živa staničja, ksilem je građen od neživog staničja koje pruža mali otpor kretanju vode. **Ksilem je provodno staničje specijalizirano za transport vode i u njoj otopljenih tvari**. Anatomska građa elemenata ksilema omogućuje vrlo učinkovit transport velikih količina vode. Postoje dva tipa mrtvih stanica koje izgrađuju ksilem: **traheje** i **traheide.** To su stanice s lignificiranim, zadebljalim sekundarnim staničnim stijenkama (**Slika 2.11.**). Traheje su prisutne kod kritosjemenjača i male skupine golosjemenjača, a traheide nalazimo kod obje skupine biljaka.

Pri diferencijaciji ksilemskih elemenata dolazi do sinteze sekundarnih staničnih stijenki te odumiranja stanica. Nastanak ksilemskih elemenata zapravo je oblik programirane smrti stanica, pri čemu one gube citoplazmu, membrane i sve organele, a preostaju samo zadebljale, lignificirane stanične stijenke. Takvi ksilemski elementi čine šuplje provodne cijevi koje pružaju vrlo malo otpora kretanju vode.

Traheide su izdužene, vretenaste stanice poredane jedna uz drugu te se tako vertikalno preklapaju (**Slika 2.11.**). Voda se kreće kroz traheide i prolazi iz jedne u drugu kroz mnogobrojne pore koje se nalaze u bočnim stijenkama. Pore su dijelovi bočnih stijenki traheida u kojima nije razvijena sekundarna stanična stijenka, a primarna stanična stijenka je tanka i porozna. Pore dviju susjednih traheida najčešće su smještene jedna nasuprot drugoj, a parovi pora omogućuju kolanje vode iz jedne traheide u drugu.

Traheje su kraće i šire u odnosu na traheide i imaju perforirane krajnje stijenke koje se nalaze na krajevima stanica i ondje čine perforirane pločice. Poput traheida, traheje imaju pore na svojim bočnim stijenkama, ali za razliku od traheida, perforirane ploče na krajevima traheja omogućuju im povezivanje u veće cjevaste strukture, dužine od nekoliko centimetara do nekoliko metara (**Slika 2.11.**)



Slika 2.11. Građa ksilemskih elemenata: traheja i traheida. Traheje i traheide međusobno su povezane brojnim porama na krajnjim i bočnim stijenkama. Na mjestu pora nije razvijena sekundarna stanična stijenka

Tlakovi koji pokreću vodu u ksilemu

Ksilemom se voda transportira od korijena do listova. Taj put kod nekih biljnih vrsta, primjerice sekvoja (*Sequoia sempervirens*), može biti dulji i od 100 metara. Stablo takve biljne vrste možemo usporediti s dugačkom cijevi kroz koju kola voda, a zatim možemo procijeniti razliku u hidrostatskom tlaku koja je potrebna da bi voda iz tla došla do krošnje takve biljke.

Kako bismo izračunali tlak potreban da se voda transportira od korijena do krošnje visine 100 m, moramo množiti prethodno spomenut gradijent tlaka od 0,02 MPa m^{-1} s visinom stabla (0,02 MPa m^{-1} × 100 m = 2 MPa).

Tome moramo pridodati i utjecaj gravitacije. Masa stupca vode od 100 m pritišće površinu na bazi tog stupca tlakom od 1 MPa. Pridodamo li utjecaj gravitacije (1 MPa) prethodno izračunatom tlaku potrebnom za dizanje stupca vode na visinu od 100 m (2 MPa), dobivamo vrijednost od 3 MPa. Dakle, 3 MPa je gradijent tlaka potreban za dizanje stupca vode od baze drveta do krošnje najviših drvenastih vrsta (100 m). U ksilemu se mogu pojaviti dva tlaka koja pokreću vodu: **korijenov tlak i transpiracijski usis.**

Korijenov tlak

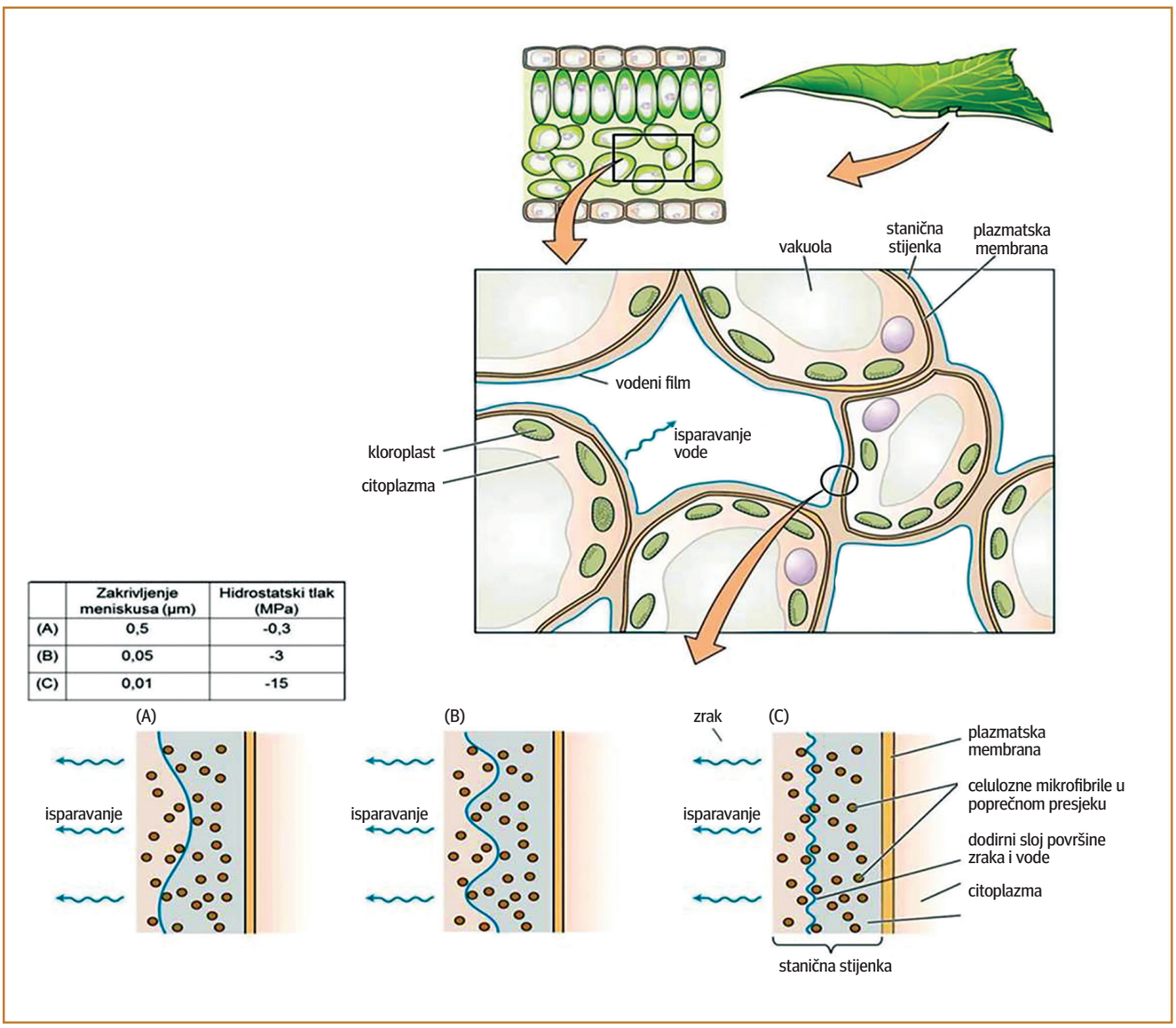
Nakupljanje otopljenih tvari u ksilemu korijena može izazvati nastanak pozitivnog hidrostatskog tlaka, nazvanog korijenov tlak. Utjecaj korijenova tlaka na kretanje vode ksilemom možemo uočiti ako neposredno iznad razine tla odrežemo stabljiku mlade, tek proklijale biljke. Na prerezu stabljike, u dijelu gdje se nalaze ksilemski elementi, doći će do pojave kapljica tekućine. Izmjerimo li manometrom tlak te tekućine, utvrdit ćemo da je riječ o pozitivnom hidrostatskom tlaku, čije su vrijednosti od 0,05 do 0,5 MPa. Korijenov tlak, odnosno pozitivni hidrostatski tlak u ksilemu korijena nastaje zato što korijenje prima otopljene tvari iz otopine tla te ih nakuplja u ksilemu.

Povećanje koncentracije otopljenih tvari u ksilemu korijena izaziva pad osmotskog potencijala (Ψ_{Π}), a posljedica toga je pad vodnog potencijala (Ψ_w). Pad vodnog potencijala predstavlja pokretačku silu za primanje vode, a ulaskom vode u ksilem javlja se pozitivni hidrostatski tlak koji nazivamo korijenov tlak. Zapravo se čitav korijen ponaša kao osmometar; živa staničja korijena (epiderma, kora korijena, endoderma) ponašaju se poput membrana u osmometru, samo što još imaju mogućnost aktivnog prijenosa te uzrokuju povećanje koncentracije otopljenih tvari u ksilemu, a zatim i povećanje hidrostatskog tlaka. Korijenov tlak nastaje kada je vodni potencijal tla visok, a izlučivanje vode iz biljke transpiracijom nisko.

Pri intenzivnoj transpiraciji voda se vrlo brzo transportira u lišće i izlučuje u atmosferu, što onemogućuje nakupljanje otopljenih tvari u ksilemu korijena i razvoj korijenova tlaka. Korijenov tlak uzrokuje i pojavu izlučivanja vode u obliku kapljica, gutaciju (izlučivanje vode kroz hidatode) ili suzenje (izlučivanje vode iz oštećenih, odnosno presječenih elemenata ksilema).

Transpiracijski usis

Gradijent tlaka potreban za kretanje vode kroz ksilem može nastati i zbog negativnog tlaka (podtlaka) koji se razvija transpiracijom (gubitkom vode kroz puči). Kao što je navedeno, korijenov tlak (0,05-0,5 MPa) ne može se razviti u uvjetima niskog vodnog potencijala tla ili intenzivne transpiracije, a s obzirom na to da tlak potreban za transport vode na velike udaljenosti iznosi i do 3 MPa, očito je da korijenov tlak ne može biti glavna (jedina) pokretačka sila vode u ksilemu. Naime, zbog gubitka vode transpiracijom dolazi do nastanka tenzije (negativnog hidrostatskog tlaka) koja pokreće vodu uzlazno u ksilemu. Mehanizam kojim tenzija pokreće vodu ksilemom nazvan je transpiracijski usis. Negativan hidrostatski tlak razvija se na površini staničnih stijenki ispod puči lista (**Slika 2.12.**). Proces je jednak stvaranju meniskusa, odnosno zakrivljenja kontaktne površine graničnog sloja između vode i zraka (**Slika 2.3.**). Sustav staničnih stijenki lista ponaša se kao mreža mikroskopskih pora ispunjenih vodom koja je adhezijom vezana na celulozne mikrofibrile stijenki. Stanice mezofila lista nalaze se ispod puči i u uvjetima kada su puči otvorene u izravnom su kontaktu s okolnom atmosferom. Kako voda isparava u okolnu atmosferu, površina vode povlači se u međuprostore između stanica (**Slika 2.12.**) gdje se stvaraju zakrivljenja dodirne površine između zraka i vode. Zbog površinske napetosti vode meniskusi izazivaju pojavu tenzije, odnosno negativan hidrostatski tlak. Isparavanjem sve većih količina vode meniskusi postaju sve dublji (zakrivljeniji), a tenzija sve veća (sve negativniji hidrostatski tlak).



	Zakrivljenje meniskusa (μm)	Hidrostatski tlak (MPa)
(A)	0,5	-0,3
(B)	0,05	-3
(C)	0,01	-15

Slika 2.12. Razvoj tenzije u međustaničnim prostorima lista. Sila koja pokreće transport vode kroz biljku javlja se u listu. Isparavanje vode s površine staničnih stijenki mezofilnog staničja lista izaziva povlačenje vode dublje u međustanične prostore. Celuloza koja izgrađuje stanične stijenke je hidrofilna (kut dodirne površine = 0°) te površinska napetost izaziva pojavu negativnog tlaka (tenzije). Kako voda isparava, povećava se zakrivljenje dodirne površine između zraka i vode, tj. povećava se tenzija (tlak postaje sve negativniji). Tenzija izaziva povlačenje stupca vode kroz ksilem iz korijena prema staničnim stijenkama mezofila lista

Transpiracijsko-adhezijsko-kohezijsko-tenzijska (TAKT) teorija objašnjava mehanizam transporta vode bez utroška metaboličke energije.

Energija za kretanje vode kroz ksilem zapravo dolazi od Sunca koje zagrijavanjem lista i okolnog zraka ubrzava isparavanje (transpiraciju) vode iz lista i tako povećava **tenziju**, odnosno negativan hidrostatski tlak koji povlači stupac vode ksilemom prema gore. U ovom procesu **kohezija** (sila koja privlači i međusobno veže molekule vode) i **adhezija** (sila koja privlači molekule vode za stijenke ksilema) osiguravaju neprekinut stupac vode u ksilemskim elementima.

Izrazito jaka tenzija koja se javlja u krošnjama stabala postavlja niz fizikalnih izazova transportu vode kroz ksilem.

Osnovni je izazov na koji način stijenke ksilemskih elemenata izdrže negativan tlak vode u ksilemu. Negativni tlak vode u ksilemu može izazvati kolaps provodnih elemenata, no sekundarne stanične stijenke ksilemskih elemenata su zadebljale, lignificirane i vrlo čvrste (**Slika 2.11.**). Biljne vrste kod kojih se javljaju velike tenzijske sile obično imaju gušće i čvršće drvo.

Sljedeći se izazov odnosi na stabilnost stupaca vode u uvjetima velikog negativnog tlaka.

Pod utjecajem velikog negativnog tlaka voda je u fizikalno nestabilnom stanju. Kad se hidrostatski tlak tekuće vode izjednači s tlakom pare (tlak u vodi otopljenih plinova), dolazi do promjene agregatnog stanja vode i ona prelazi u plinovito stanje. Poznato je da će zagrijavanje vode izazvati njezino isparavanje (promjenu agregatnog stanja), a slično tome, promjena agregatnog stanja vode može se dogoditi i pri sobnoj temperaturi ako je voda u vakuumu (smanjenje atmosferskog tlaka smanjuje hidrostatski tlak).

Uz pretpostavku da je tlo potpuno zasićeno vodom te da u vodi nema otopljenih tvari, vodni potencijal tla bit će nula (Ψ_w = 0). Prema TAKT teoriji, tenzija, odnosno hidrostatski tlak na vrhu krošnje drveta u tom trenutku može iznositi do -3 MPa, što je znatno više u odnosu na tlak pare u vodi (koji pri temperaturi od 20 °C iznosi ≈ 0,002 MPa).

Postavlja se pitanje zašto voda u ksilemu ne prelazi u plinovito stanje. Smatra se da se voda u ksilemu nalazi u metastabilnom stanju, tj. u tekućem stanju unatoč pojavi termodinamički negativnog energetskog stanja. Takvo stanje vode javlja se zbog: 1) kohezije i adhezije vode, što povećava energiju potrebnu za prijelaz vode iz tekuće u plinovitu fazu i 2) strukture ksilema, koja smanjuje na najmanju moguću mjeru pojavu nukleusa (jezgara) koji omogućuju pojavu aktivacijske energije. Najvažniji nukleusi su mjehurići plinova dovoljne veličine da se počnu širiti pod utjecajem tenzije.

Širenje mjehurića plinova nastavlja se dok god ne ispune cijeli ksilemski element.

Fenomen nastanka mjehurića plinova u ksilemu naziva se **kavitacija ili embolija**, što je slično emboliji krvnih žila. Kavitacija prekida kontinuum vodenih stupaca u ksilemu i onemogućuje tenzijom izazvano kretanje vode. Pojava kavitacije može rezultirati ugibanjem biljke. Međutim, biljke posjeduju mehanizme kojima se štite od nje. Osnovna obrana biljaka od kavitacije je međusobna povezanost ksilemskih elemenata.

Kad se mjehurić pojavi u dijelu ksilema, voda ga jednostavno zaobiđe koristeći druge ksilemske elemente. Iako teoretski, mjehurić plina može narasti toliko da ispuni cijelu mrežu međusobno povezanih ksilemskih elemenata, no u praksi se mjehurići plinova ne šire iz jednog ksilemskog elementa u drugi jer teško prolaze kroz pore (jažice). Mjehurići plina mogu se i potpuno ukloniti iz ksilema. Noću, kad nema transpiracije, tenzija se smanjuje, odnosno hidrostatski tlak u ksilemu raste, a može postati i pozitivan ako se javi korijenov tlak. Pozitivan hidrostatski tlak u ksilemu uzrokuje ponovno otapanje plinova u vodi.

Uz to, višegodišnje biljke sekundarnim rastom svake godine stvaraju nove elemente ksilema.

2.4. Izlučivanje vode iz biljke

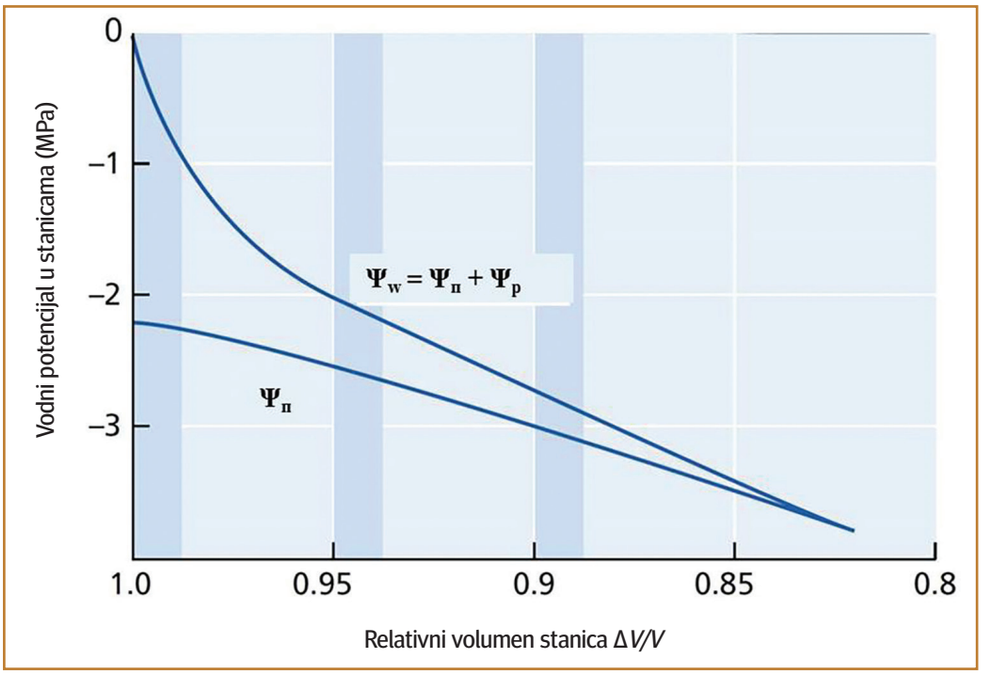
2.4.1. Princip izlaska vode iz stanice

Ako koristimo prethodni primjer (**Slika 2.8.D**) i premjestimo stanicu iz 0,1 M otopine saharoze u 0,3 M otopinu saharoze, vodni potencijal otopine ($\Psi_{w(otopine\ saharoze)}$ = -0,732 MPa) bit će niži od vodnog potencijala stanice ($\Psi_{w(stanice)}$ = -0,244 MPa), a voda će se kretati niz gradijent vodnog potencijala, tj. iz stanice u otopinu. Kako voda izlazi iz stanice, smanjuje se njezin volumen, hidrostatski potencijal (Ψ_p) i vodni potencijal stanice (Ψ_w), sve dok se ne izjednači s vodnim potencijalom otopine ($\Psi_{w(stanice)} = \Psi_{w(otopine\ saharoze)}$ = -0,732 MPa).

Tako funkcionira transport vode iz stanica, taj je proces pasivan (bez utroška energije), a pokreću ga fizikalne sile zbog kojih se voda kreće iz područja većeg vodnog potencijala (veće slobodne energije) u područje manjeg vodnog potencijala (manje slobodne energije).

U uvjetima gdje nema semipermeabilne membrane voda i otopljene tvari kretat će se niz gradijent tlaka, odnosno iz područja višeg tlaka u područje nižeg tlaka. Iako se javlja i difuzija molekula vode iz područja više koncentracije u područje niže koncentracije, bez semipermeabilne membrane difuzija molekula vode u jednom smjeru bit će „poništena“ difuzijom molekula otopljenih tvari u suprotnom smjeru. Stoga je tvrdnja da se voda kreće niz gradijent vodnog potencijala istinita za sustave koji imaju semipermeabilnu membranu.

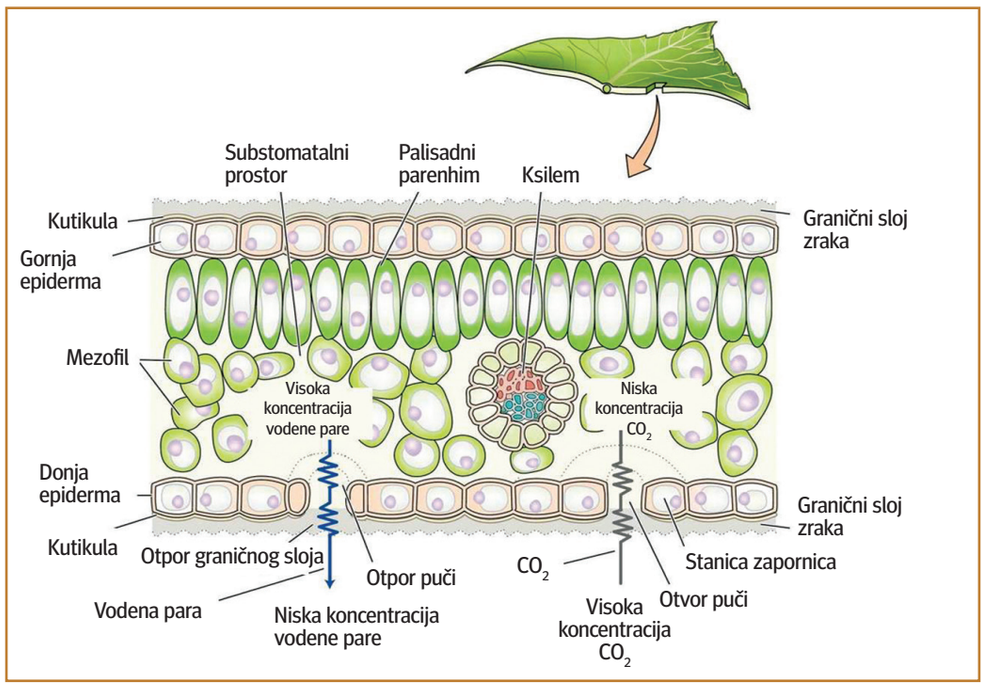
Stanična stijenka uravnotežuje promjene volumena stanice unatoč velikim promjenama vodnog potencijala koje se javljaju kao posljedica gubitka vode pri transpiraciji. Zbog toga što su stanične stijenke čvrste, promjene vodnog potencijala stanice (Ψ_w) uglavnom se javljaju zbog velikih promjena u hidrostatskom potencijalu (Ψ_p), dok su istodobne promjene volumena stanice (protoplasta) vrlo male. Ovaj fenomen ilustriraju funkcije vodnog (Ψ_w), hidrostatskog (Ψ_p) i osmotskog (Ψ_Π) potencijala u odnosu na stanični volumen (**Slika 2.13.**).



Slika 2.13. Hofflerov dijagram odnosa između vodnog potencijala (Ψw) i njegovih komponenti, hidrostatskog (Ψp) i osmotskog ($\Psi_п$) potencijala u odnosu na volumen stanice (ΔV/V). Padom vodnog potencijala s 0 na -2 MPa, volumen stanice će se smanjiti za 5%, Ψp za 1,2 MPa, a $\Psi_п$ za 0,3 MPa.

2.4.2. Transpiracija

Na svom putu iz lista u atmosferu voda prelazi iz ksilema u stanične stijenke stanica mezofila, a odatle isparava u međustanične prostore lista (**Slika 2.14.**). Iz listova se voda oslobađa difuzijom u obliku vodene pare kroz sitne otvore **stomatalnog aparata** (**puči**) koji se nalaze u epidermi lista (detaljnije u sljedećem poglavlju), procesom koji se naziva **transpiracija**. Osim u listovima, puči se nalaze u plodovima, u epidermi stabljike, dijelovima cvijeta itd. Puči se na listovima mogu nalaziti na donjoj strani, dok ih na gornjoj strani često uopće nema (hipostomatski listovi), s obje strane (amfistomatski listovi) ili isključivo s gornje strane (epistomatski listovi). Ukupna površina puči iznosi 1-3% površine lista, a kroz njih se izgubi 2/3 od ukupno usvojenog volumena vode putem korijena. Odnosno gubitak vode kroz puči 30-ak je puta veći nego s drugih dijelova lista.



Slika 2.14. Transpiracija. Voda se kreće iz ksilema u stanične stijenke stanica mezofila, zatim isparava u zrakom ispunjene međustanične prostore i difundira kroz otvore puči u atmosferu

Osim **stomatalne transpiracije**, postoje **kutikularna** i **lenticelna** transpiracija.

Radi sprečavanja gubitka vode s površine svojih organa, biljke sintetiziraju kutikulu koja služi kao barijera kretanju vode. **Kutikularna** transpiracija ovisi o debljini kutikule (voštane prevlake na površini lista; **Slika 2.14.**) koja je proporcionalna starosti biljke te o okolišnim uvjetima. Procjenjuje se da odrasle biljke kroz kutikulu gube oko 5% ukupno primljene vode putem korijena, dok kod mladih biljaka (s tanjom kutikulom) kutikularna transpiracija može predstavljati i do 50% vode izgubljene transpiracijom.

Lenticelna transpiracija, koja se odvija kroz lenticele (otvori na odrvenjelim dijelovima biljke), ljeti može iznositi do 30% ukupne transpiracije. Transpiracija vode može se odvijati kroz koru drveća (peridermalno) te iz plodova.

Čimbenici koji utječu na transpiraciju

Transpiracija je zapravo difuzija vodene pare s površine staničnih stijenki stanica mezofila lista u atmosferu. Difuzija u tekućini je spora i stoga učinkovita samo u pogledu prijenosa na male udaljenosti (stanične dimenzije), međutim, u plinovitom mediju difuzija je mnogo brža. Primjerice, udaljenost koju molekula vode mora prijeći da bi difundirala od mjesta isparavanja unutar lista do vanjskog zraka (atmosfere) je oko 1 mm. Budući da koeficijent difuzije vode u zraku iznosi $2,4 \times 10^{-5}\ m^2\ s^{-1}$, prosječno vrijeme potrebno za izlazak molekule vode iz lista iznosi oko 0,042 s. Iz navedenog proizlazi da će transpiracija iz lista ovisiti o dva osnovna čimbenika:

1) razlici u koncentraciji vodene pare između zrakom ispunjenih međustaničnih prostora lista i vanjskog zraka

2) otporu difuziji koji se javlja pri transpiraciji.

Tijekom transpiracije molekule vodene pare difundiraju niz gradijent koncentracije vodene pare te postoje određene zone unutar i izvan lista u kojima se javlja tzv. otpor difuziji. Dvije su osnovne zone na kojima se javlja otpor difuziji molekula vode pri transpiraciji: 1) otpor pući ili stomatalni otpor koji nastaje pri difuziji molekula vode kroz otvore pući i

2) otpor graničnog sloja zraka uz list koji se javlja u statičnom sloju zraka uz samu površinu lista kroz koji vodena para mora difundirati do turbulentnog zraka atmosfere (**Slika 2.14.**).

Debljinu graničnog sloja zraka uz list prvenstveno određuje brzina vjetra. Kada je zrak okoliša vrlo miran, povećava se debljina statičnog sloja zraka na površini lista, čime raste otpor difuziji molekula vode te je gubitak vodene pare iz lista vrlo malen.

Povećanje otvora pući u takvim uvjetima ima malo utjecaja na stupanj transpiracije (iako će zatvaranje pući dodatno smanjiti transpiraciju).

Kad je brzina vjetra velika, kretanje zraka smanjuje debljinu graničnog sloja zraka na površini lista, čime se smanjuje otpor difuziji molekula vode, a povećava se transpiracija.

Pri ovakvim uvjetima, otvaranjem i zatvaranjem pući znatno se kontrolira gubitak vode iz lista.

Anatomska i morfološka građa lista mogu utjecati na debljinu graničnog sloja zraka.

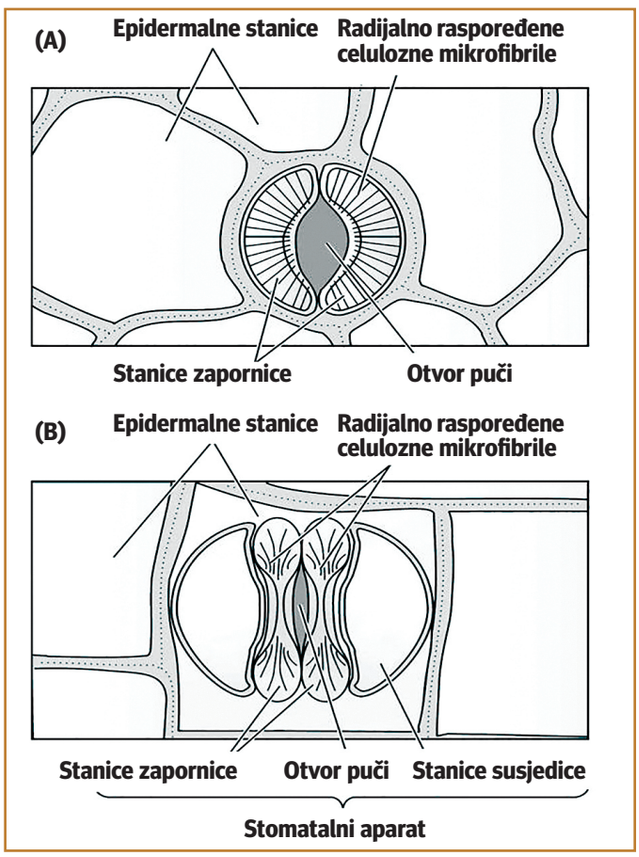
Primjerice, dlake na površini lista mogu poslužiti kao mikroskopski vjetrobrani i povećati debljinu graničnog sloja zraka. Neke biljke imaju pući uvučene u epidermu lista te se u udubljenjima stvara zaštićena zona s debljim graničnim slojem zraka.

Veličina i oblik lista također utječu na način kojim vjetar prolazi po cijeloj površini lista. Iako ti i drugi čimbenici mogu utjecati na debljinu graničnog sloja zraka, oni nisu svojstva koja mogu brzo utjecati na transpiraciju. Za kratkoročnu regulaciju transpiracije ključnu ulogu ima kontrola otvaranja i zatvaranja pući uz pomoć stanica zapornica (detaljnije u sljedećem poglavlju).

2.4.3. Građa i mehanizam rada pući

Pući su modificirane epidermalne stanice lista građene od dvije stanice zapornice specifičnog oblika sa zadebljalim staničnim stijenkama (**Slika 2.15.**). Otvor pući je dugačak prorez eliptičnog oblika koji se nalazi između stanica zapornica. Uz stanice zapornice nalazi se par diferenciranih stanica epiderme koje se nazivaju **stanice susjedice**, a koje pomažu stanicama zapornicama kontrolirati otvor pući. **Stanice zapornice, stanice susjedice i otvor skupno se nazivaju stomatalni aparat.** Stanice zapornice pokazuju znatnu morfološku raznolikost, no općenito razlikujemo dva osnovna tipa (oblika): prvi je **graminejski tip** – tipičan za trave i neke monokotiledone (npr. palme) (**Slika 2.15.B**), a drugi je **helleborus tip** – javlja se kod svih dikotiledona i mnogih monokotiledona, kao i kod mahovina, paprati i golosjemenjača (**Slika 2.15.A**). Posebnost stanica zapornica je u strukturi njihovih **zadebljanja staničnih stijenki**, koja omogućuju otvaranje/zatvaranje pući. Bubrežaste stanice zapornice u staničnoj stijenci imaju celulozne mikrofibrile koje se radijalno (zrakasto) šire od otvora pući. Zbog elastičnih svojstava i zadebljanja staničnih stijenki, stanice zapornice mogu reverzibilno povećati svoj volumen od 40 do 100%, ovisno o biljnoj vrsti. Kod trava su stanice zapornice u obliku bučica s proširenim krajevima.

Mehanizam otvaranja i zatvaranja (gibanje) pući uvjetovan je **promjenama turgora** u stanicama zapornicama. Djelujući kao hidraulički zalisci, pući većinom reagiraju na okolišne čimbenike kao što su intenzitet i kvaliteta svjetla, temperatura, relativna vlaga zraka te unutarstanična koncentracija CO_2. Svi navedeni signali zajedno se integriraju u dobro definiranu reakciju pući.



Slika 2.15. Građa pući. A) Helleborus tip; b) graminejski tip. Pući su modificirane stanice epiderme lista građene od stanica zapornica, a ponekad i od stanica susjedica

2.4.3.1. Fotonastijsko gibanje puči

U turgescentnom listu postoji ovisnost između otvorenosti puči i stope fotosinteze. Svjetlost u normalnim okolnostima uzrokuje otvaranje puči tako da putem povišenja potencijalnog osmotskog tlaka inducira relativno povišenje turgora stanica zapornica u odnosu na susjedne stanice. Djelotvorni spektar svjetlosti koji pokreće ovakvo fotonastijsko gibanje puči je fotosintetski aktivna radijacija (*Photosynthetically Active Radiation* – PAR) uz dodatni učinak plave svjetlosti. Puči su izuzetno osjetljive na svjetlost, a odlučujući čimbenik pri fotonastijskom gibanju puči je koncentracija ugljikova dioksida u listu.

Fotosintetski aktivna radijacija (PAR) uzrokuje fotonastijsko gibanje puči djelujući na fotosintezu, odnosno na smanjenje koncentracije CO_2 u listu, što stimulira otvaranje puči. Fotosintezom se sintetiziraju šećeri koji pridonose osmotskom potencijalu, osmotski potencijal postaje negativniji, pri čemu dolazi do ulaska vode i povećanja turgora te otvaranja puči. Fotosintezom se stvara ATP potreban za djelovanje protonske crpke (H^+-ATPaze) kojom se ioni vodika izbacuju iz stanica zapornica u apoplast.

Plava svjetlost (valne duljine 400-500 nm) stimulira aktivnost H^+-ATPaza u membranama stanica zapornica. Radom H^+-ATPaza dolazi do izbacivanja H^+ iz stanica zapornica u apoplast, čime se zakiseljava apoplast i stvara elektrokemijski gradijent poprijeko membrane stanica zapornica.

Zbog toga dolazi do pasivnog ulaska kalija (K^+) kroz kanalne proteine. Kalij je vrlo djelotvoran osmoregulator te povišenjem njegove koncentracije u stanicama zapornicama (sa 100 mM na 400-800 mM) dolazi do povišenja potencijalnog osmotskog tlaka u zapornicama (osmotski potencijal postaje negativniji), što smanjuje vodni potencijal, voda ulazi u stanice zapornice, a time se poveća turgor i puči se otvaraju.

2.4.3.2. Hidronastijsko gibanje puči

Puči ne reagiraju na promjene vodnog potencijala lista u rasponu od -0,5 do -1,8 MPa. Spusti li se vodni potencijal listova ispod te vrijednosti, puči se mogu zatvoriti i na svjetlosti. To se može dogoditi ako uz jednak turgor stanica zapornica naglo poraste turgor stanica susjedica (npr. ako nakon sušnog razdoblja padnu obilne oborine). Isto tako, ako se odreže list, dolazi do gubitka turgora najprije u epidermalnim stanicama.

Ovakva gibanja puči, pri kojima se sadržaj otopljenih tvari u stanicama zapornicama ne mijenja, nazivaju se hidropasivnim gibanjima. No hidronastijska gibanja puči većinom su povezana s promjenama sadržaja otopljenih tvari u zapornicama. Takva gibanja puči nazivaju se hidroaktivnim gibanjima. Hidropasivna kontrola proizlazi iz vodnog statusa biljke.

Puči se zatvore i ne otvaraju sve do uspostave normalnog vodnog potencijala. Taj mehanizam štiti biljku od ekstremne nestašice vode. Hidroaktivna kontrola uključuje preraspodjelu i sintezu fitohormona apscizinske kiseline (ABA) kada se vodni potencijal biljke smanji. ABA inhibira rad H^+-ATPaze i aktivira rad neselektivnih Ca^{2+} kanala i anionskih kanala. To dovodi do depolarizacije membrana stanica zapornica i gubitka elektrokemijskog potencijala, što dovodi do izlučivanja K^+ iz stanica zapornica, pada turgora i zatvaranja puči. Uz to, ABA deaktivira rad K^+ kanala zaduženih za prijenos K^+ u stanice zapornice, što nadalje pridonosi zatvaranju puči.

2.4.3.3. Termonastijsko gibanje puči

Kod biljaka dobro opskrbljenih vodom puči mogu biti otvorene i pri visokim temperaturama, što predstavlja prednost jer transpiracija pridonosi hlađenju (termoregulaciji) biljke i sprečava pregrijavanje lista te održava temperaturu blizu vrijednosti optimalnih za odvijanje fotosinteze i drugih staničnih procesa.

Neke pustinjske biljke (npr. *Citrullus colocynthis*) mogu opstati pri ekstremno visokim temperaturama (>55 °C) samo zato što svoje nadzemne dijelove rashlađuju jakom transpiracijom te postižu temperaturu oko 40 °C.

2.4.4. Gutacija i suzenje

Za razliku od transpiracije, kod gutacije i suzenja dolazi do izlučivanja vode u obliku kapljica (tekućine). U oba ova procesa voda se ksilemom kreće pod utjecajem pozitivnog hidrostatskog tlaka tzv. korijenova tlaka.

Gutacija se javlja samo kod određenih biljnih vrsta, primjerice trava (npr. pšenica i ječam), rajčice, nekih tikvenjača i tropskih vrsta. Odvija se kroz otvore koji se nazivaju **hidatode,** a nalaze se na završetcima žila, uz rubove listova. Hidatode nemaju stanice zapornice te su stoga stalno otvorene.

Gutacija se obično javlja tijekom noći, u uvjetima koji pogoduju razvoju korijenova tlaka (visoka relativna vlaga zraka, dobra opskrbljenost biljke vodom, zatvorene puči – nema transpiracije). Količina vode koja se izluči gutacijom varira od nekoliko kapljica do nekoliko mililitara.

Za razliku od gutacije, suzenje (ili eksudacija) javlja se na mjestima rezova ili ozljeda ksilemskih i floemskih provodnih elemenata (primjerice kod rezidbe rozgve vinove loze). Suzenjem se izlučuju veće količine vode u usporedbi s gutacijom, a ovise o veličini ozljede.

3. Mineralna ishrana

Uvod

Mineralna hranjiva su elementi koje biljka uglavnom prima u ionskom obliku iz tla. Iako mineralna hranjiva kontinuirano kruže kroz sve organizme, ona se primarno uključuju u biosferu nakon što ih biljke prime uz pomoć korijena i ugrade u svoj organizam. Velika aktivna površina korijena i njegova sposobnost apsorpcije iona iz otopine tla, u kojoj se hranjiva nalaze u vrlo niskim koncentracijama, čine proces apsorpcije (primanja) mineralnih hranjiva vrlo učinkovitim. Znanost koja se bavi istraživanjima apsorpcije i korištenja mineralnih tvari u biljkama naziva se ishrana bilja. Ishrana bilja zauzima središnje mjesto u modernoj poljoprivrednoj proizvodnji i zaštiti okoliša.

Prinosi modernih sorata kultiviranog bilja uvelike ovise o gnojidbi. Štoviše, prinos kultiviranog bilja raste linearno s apsorpcijom mineralnih tvari. Međutim, poljoprivredne kulture najčešće iskoriste manje od polovine apliciranih gnojiva, a zaostali suvišak gnojiva pridonosi onečišćenju i zagađenju okoliša.

Budući da studenti Agronomskog fakulteta tijekom svog studija slušaju i polažu nekoliko modula iz područja ishrane bilja, u ovom ćemo poglavlju ukratko objasniti osnovne (esencijalne) elemente koji su potrebni biljkama za normalan rast i razvoj, njihovu funkciju u biljnom organizmu i mehanizme apsorpcije.

3.1. Esencijalna biljna hranjiva

Esencijalnim biljnim hranjivima smatraju se mineralna hranjiva bez čije prisutnosti biljke ne mogu završiti svoj životni ciklus. Uz prisutnost esencijalnih elemenata i Sunčeve svjetlosti biljke mogu proizvesti sve tvari koje su im potrebne za normalan rast i razvoj. Tablicom 3.1. prikazana su esencijalna biljna hranjiva. Ugljik, vodik i kisik ne ubrajaju se u mineralna hranjiva jer ih biljka prima u obliku vode iz tla i plinova (O_2 i CO_2) iz zraka.

Esencijalna mineralna hranjiva prema zastupljenosti (koncentraciji) u biljnom organizmu dijele se na **makrohranjiva** (makroelemente) i **mikrohranjiva** (mikroelemente) (**Tablica 3.1.**). Međutim, relativna koncentracija pojedinog biljnog hranjiva ovisi o biljnom tkivu, tako je npr. koncentracija željeza u mezofilu lista gotovo jednaka koncentraciji sumpora ili magnezija. Zbog toga neki autori dijele mineralna hranjiva prema fiziološkoj ulozi (**Tablica 3.2.**).

Element	Kemijski simbol	Koncentracija u suhoj tvari biljke, (% ili mg kg^{-1})*	Relativni odnos broja atoma pojedinog elementa i molibdena
Primaju se u obliku H_2O, O_2 i CO_2			
Vodik	H	6	60 000 000
Kisik	O	45	40 000 000
Ugljik	C	45	30 000 000
Primaju se iz tla			
Makrohranjiva		%	
Dušik	N	1,5	1 000 000
Kalij	K	1,0	250 000
Kalcij	Ca	0,5	125 000
Magnezij	Mg	0,2	80 000
Fosfor	P	0,2	60 000
Sumpor	S	0,1	30 000
Silicij	Si	0,1	30 000
Mikrohranjiva		mg kg^{-1}	
Klor	Cl	100	3 000
Željezo	Fe	100	2 000
Bor	B	20	2 000
Mangan	Mn	50	1 000
Natrij	Na	10	400
Cink	Zn	20	300
Bakar	Cu	6	100
Nikal	Ni	0,1	2
Molibden	Mo	0,1	1

Tablica 3.1. Biljna mineralna hranjiva i njihove koncentracije u biljci.

* Vrijednosti C, H i O te makrohranjiva prikazane su kao postotni udio (%) u suhoj tvari biljke, a vrijednosti mikroelemenata prikazane su u mg kg-1 suhe tvari.

Mineralno hranjivo	Funkcija
Prva skupina	**Biljna hranjiva koja ulaze u sastav organske tvari (spojeva s ugljikom)**
N	Ulazi u sastav aminokiselina, amida, nukleinskih kiselina, nukleotida, koenzima itd.
S	Ulazi u sastav cisteina, cistina, metionina i proteina, koenzima A, tiamina, glutationa, pirofosfata, biotina, 3-fosfoadenozina, adenozin -5-fosfosulfata.
Druga skupina	**Biljna hranjiva važna za strukturu, metabolizam i prijenos energije**
P	Komponenta šećernih fosfata, nukleinskih kiselina, nukleotida, koenzima, fosfolipida, fitinske kiseline. Ključan je u reakcijama koje uključuju ATP.
Si	Deponira se kao amorfni silikati u stanične stijenke. Pridonosi mehaničkim svojstvima stanične stijenke (čvrstoća i elastičnost).
B	U kompleksima s manitolom, mananima kao konstituent stanične stijenke. Uključen u rast stanice i metabolizam nukleinskih kiselina.
Treća skupina	**Biljna hranjiva koja se nalaze u ionskom obliku**
K	Kofaktor u više od 40 enzima. Osnovni kation za regulaciju turgora i elektroneutralnost stanice.
Ca	Konstituent središnje lamele staničnih stijenki. Uključen u hidrolizu ATP-a i fosfolipida. Kofaktor u mnogim enzimima. Sekundarni glasnik (signalna molekula) u regulaciji metabolizma.
Mg	Potreban za aktivnost mnogih enzima, važan za transport fosfata. Uključen u strukturu klorofila.
Cl	Važan za fotosintetske reakcije i nastanak O_2.
Mn	Potreban za aktivnost nekih dehidrogenaza, dekarboksilaza, kinaza, oksidaza i peroksidaza. Uključen u reakcije fotosinteze i nastanak O_2.
Na	Uključen u regeneraciju fosfoenolpiruvata kod C_4 i CAM biljaka. U nekim reakcijama može zamijeniti K.
Četvrta skupina	**Biljna hranjiva uključena u redoks reakcije**
Fe	Konstituent citokroma, i nehemskih željeznih proteina uključenih u fotosintezu, fiksaciju N_2 i respiraciju.
Zn	Konstituent alkohol dehidrogenaze, glutamin dehidrogenaze itd.
Cu	Komponenta askorbinske kisele oksidaze, tirozinaze, monoaminoksidaze, citokrom oksidaze, fenolaze, plastocijanina.
Ni	Konstituent ureaze važne za asimilaciju N (hidrolizira ureu do amonijaka i CO_2) i hidrogenaze.
Mo	Konstituent nitrogenaze, nitrat reduktaze i ksantin dehidrogenaze.

Tablica 3.2. Podjela biljnih mineralnih hranjiva prema biokemijskoj funkciji

3.2. Deficit mineralnih hranjiva

Neadekvatna opskrba biljaka esencijalnim hranjivima rezultira pojavom specifičnih simptoma nedostatka. Simptomi nedostatka pojedinog hranjiva rezultat su metaboličkih poremećaja koji se javljaju zbog nedovoljne opskrbljenosti nekim esencijalnim elementom.

Simptomi nedostatka pojedinog hranjiva su specifični, a povezani su s funkcijom hranjiva (neke od funkcija navedene su u **tablici 3.3.**).

Iako pojedino hranjivo ima veći broj fizioloških funkcija i sudjeluje u većem broju metaboličkih reakcija, ipak postoje neke opće postavke o funkciji pojedinog hranjiva u metabolizmu biljke.

Općenito, esencijalna mineralna hranjiva imaju strukturnu ulogu, metaboličku ulogu ili su osmoregulatori. Kad se simptomi vidljivi na biljci povezuju s nedostatkom pojedinog hranjiva, ključno je pitanje pokretljivost tog hranjiva u biljci (**Tablica 3.3.**), tj. može li se to hranjivo remobilizirati („reciklirati“) iz starijih organa biljke u mlađe.

Neka hranjiva, poput dušika (N), fosfora (P) i kalija (K), vrlo su pokretna u biljci te se lako premještaju unutar nje. S druge strane, hranjiva poput bora (B), kalcija (Ca) i željeza (Fe) slabo su pokretna u biljci.

S obzirom na pokretljivost pojedinog hranjiva, simptomi njegova nedostatka javljaju se na određenim dijelovima biljke. Tako se simptomi slabo pokretnih hranjiva javljaju na najmlađim organima (mladim listovima, vegetacijskim vrhovima, plodovima), a simptomi lako pokretnih hranjiva na starim dijelovima biljaka (stariji listovi, donji dijelovi biljke). U slučaju nedostatka lako pokretnih hranjiva dolazi do njihove mobilizacije (premještanja) iz starijih organa u mlađe (zato se simptomi javljaju na starijim organima). U sljedećim poglavljima ukratko ćemo objasniti funkcije i simptome nedostatka biljnih hranjiva.

Pokretljiva	Slabo pokretljiva
N	Ca
K	S
Mg	Fe
P	B
Cl	Cu
Na	
Zn	
Mo	

Tablica 3.3. Podjela esencijalnih mineralnih hranjiva prema njihovoj pokretljivosti u biljci

Grupa 1. Mineralna hranjiva koja su uključena u sintezu organskih spojeva (ugljičnih spojeva): dušik (N) i sumpor (S).

Dušik

Pristupačnost dušika u tlu jedan je od glavnih ograničavajućih čimbenika poljoprivredne proizvodnje te se može reći da je dušik najvažnije biljno hranjivo. Dušik se nalazi u strukturi mnogih staničnih komponenti, uključujući aminokiseline, proteine i nukleinske kiseline, stoga njegov nedostatak vrlo brzo dovodi do prestanka rasta biljke. Budu-

ći da se dušik nalazi u strukturi klorofila, njegov se nedostatak očituje **klorozom** (žućenjem) listova, osobito starijeg. Pri izraženijem nedostatku dušika dolazi do potpunog žućenja (kloroze) i sušenja (nekroze) starijih listova. U slučaju postupnog nedostatka dušika javljaju se grube, odrvenjele stabljike (zbog nakupljanja ugljikohidrata koji se ne mogu koristiti u sintezi aminokiselina). Ti se ugljikohidrati mogu koristiti za sintezu antocijanina (skupina pigmenata) koji izazivaju crvenkasto-purpurna obojenja listova, peteljki i stabljika (vidljivo kod kukuruza).

Sumpor

Za razliku od dušika, većina tala vrlo je dobro opskrbljena sumporom te se njegov nedostatak vrlo rijetko javlja. Sumpor je sastavni dio nekih aminokiselina (cistein i metionin) te koenzima i vitamina (acetil koenzim A, biotin, vitamin B_1, pantotenska kiselina), spojeva koji su esencijalni za biljni metabolizam. Mnogi simptomi, svojstveni nedostatku dušika, javljaju se i pri nedostatku sumpora, uključujući klorozu, redukciju rasta i pojavu antocijanina. Sličnosti u simptomima nedostatka ovih dvaju elemenata nisu neobične zbog toga što su oba uključena u sintezu proteina. Međutim, razlika je u tome što se simptomi nedostatka sumpora uglavnom javljaju na mlađim listovima (jer je sumpor slabo pokretan u biljci).

Grupa 2. Mineralna hranjiva važna za strukturni integritet biljke i metabolizam energije: fosfor (P), silicij (Si) i bor (B).

Fosfor

Fosfor se u biljci nalazi u obliku fosfata ($H_2PO_4^-$) te je sastavni dio važnih metabolita u stanici, kao što su šećeri uključeni u Calvinov ciklus i druge segmente primarnog metabolizma ugljikohidrata, ATP (uključen u sve energetske procese u stanici) te važne strukturne spojeve poput fosfolipida (gradivni elementi biomembrana), nukleotida, DNK i RNK. Specifični simptomi nedostatka fosfora očituju se u kržljavom rastu mladih biljka i pojavi tamnozelene boje listova na kojima se mogu pojaviti nekrotične pjege (pjege odumrlog tkiva). Slično nedostatku dušika, i kod nedostatka fosfora može doći do sinteze antocijanina koji listovima daju purpurne nijanse. No za razliku od nedostatka dušika, ove se purpurne nijanse ne javljaju zajedno s klorozom (žućenjem), štoviše javljaju se na tamnozelenim listovima.

Silicij

Silicij je esencijalan element samo za porodicu Equisetaceae. Biljke ove porodice ne mogu završiti svoj životni ciklus bez njega. Međutim, i biljke drugih porodica nakupljaju u svom organizmu znatne količine silicija. Pri njegovu nedostatku biljke su osjetljivije na polijeganje i napad gljivičnih bolesti. Silicij se uglavnom deponira u obliku amorfnog hidratiziranog silikata u endoplazmatskom retikulumu, staničnoj stijenci i međustaničnim prostorima, gdje ima mehaničku ulogu i povećava čvrstoću tih struktura.

Bor

Bor ima važnu ulogu u rastu stanice, sintezi nukleinskih kiselina, funkciji membrane i reakcijama stanice na hormone. Simptomi nedostatka bora znatno se razlikuju među biljnim vrstama i osim o vrsti, ovise i o starosti biljke. Tipičan simptom je nekroza mladih listova i vegetativnih vrhova (odumiranje vegetativnih vrhova). Odumiranje mladih listova javlja se pri bazi lista. Stabljike biljaka deficitarnih borom mogu biti vrlo krhke. Također može doći do gubitka apikalne dominacije (apikalna dominacija je pojava kod viših biljaka kada rastući vegetacijski vrh inhibira rast postranih pupova) te prekomjernog grananja biljke, no mladi vrhovi također vrlo brzo odumiru. Plodovi (npr. cvjetača), gomolji i zadebljalo korijenje (npr. šećerna repa) mogu nekrotizirati i početi truliti iznutra. Bor ima važnu ulogu u oplodnji te se simptomi nedostatka javljaju u vidu neoplođenih sjemenih zametaka (nedostatak ili slabo razvijeno sjeme), npr. „koka i pilići“ – rehuljavi grozdovi vinove loze te kod kukuruza klip s nepotpunim brojem zrna itd.

Grupa 3. Mineralna hranjiva koja se u biljci nalaze u ionskom obliku: kalij (K), kalcij (Ca), magnezij (Mg), klor (Cl), mangan (Mn), natrij (Na).

Kalij

Kalij je u biljci prisutan u obliku slobodnog kationa (K^+) te kao takav ima važnu ulogu u regulaciji osmotske aktivnosti stanice. Također, aktivira mnoge enzime važne za proces fotosinteze i respiracije. Prvi je vidljivi simptom nedostatka kalija rubna kloroza listova koja se pretvara u nekrozu. Nekroza prvenstveno zahvaća vrh listova, a zatim se po rubovima širi prema bazi. Kalij je lako pokretan u biljci te se ovi simptomi prvenstveno javljaju na starijim listovima. Listovi se često i savijaju. Stabljike su nježne s abnormalno skraćenim internodijima.

Kalcij

Ioni kalcija (Ca^{2+}) sudjeluju u sintezi staničnih stijenki, osobito središnje lamele. Kalcij je također važan za tvorbu diobenog vretena tijekom mitoze, a i za stabilnost te funkcioniranje biomembrana. U stanici kalcij služi za prenošenje signala (bilo hormonskih bilo vanjskih podražaja). Budući da je slabo pokretan, karakteristični simptomi nedostatka kalcija javljaju se na mladim biljnim organima u vidu nekroza vegetacijskih vrhova izboja i korijena. U plodovima dolazi do propadanja dijelova stanica (poznate gorke pjege kod jabuke). Također, specifičan je simptom BER – „blossom end rot“ kod plodova rajčice, paprike, patlidžana.

Magnezij

U biljnoj stanici ion magnezija (Mg^{2+}) ima važnu ulogu u aktivaciji enzima koji pokreću disanje, fotosintezu, sintezu mol-

ekula DNK i RNK. Ion magnezija nalazi se u središtu molekule klorofila. Karakteristični simptom nedostatka magnezija je međužilna kloroza koja se pojavljuje najprije na starijim listovima (lako pokretan u biljci). Međužilna kloroza javlja se zbog toga što tkivo u blizini žila dulje vrijeme ostaje opskrbljeno magnezijem.

Klor

U biljkama se nalazi kao kloridni ion (Cl^-). Važan je za provođenje fotooksidacije vode (cijepanja molekule vode) u procesu fotosinteze te pri diobi stanica. Simptomi nedostatka klora javljaju se u vidu venuća vrhova i kasnije kloroze i nekroze listova. Listovi mogu poprimiti karakterističnu brončanu boju. Kloridi su vrlo topivi i pokretljivi u tlu te se rijetko javlja nedostatak ovog elementa.

Mangan

Ioni mangana (Mn^{2+}) aktiviraju nekoliko važnih enzima u biljnoj stanici, uglavnom dekarboksilaze i dehidrogenaze uključene u ciklus limunske kiseline (Krebsov ciklus). Važan je i za provođenje cijepanja molekule vode u fotosintezi, pri čemu se oslobađa kisik. Osnovni simptom nedostatka mangana je pojava međužilne kloroze i nekrotičnih pjega. Ovi se simptomi mogu javiti na mladim ili starim listovima, ovisno o biljnoj vrsti.

Natrij

Natrij je važan kod biljaka s C_4 i CAM tipom fotosinteze kod kojih sudjeluje u regeneraciji fosfoenolpiruvata (PEP), supstrata koji služi za predfiksaciju CO_2 kod biljaka s ovim tipovima fotosinteze. U nedostatku natrija kod ovih biljaka dolazi do kloroze i nekroze na listovima. Natrij povoljno utječe i na rast biljaka s C_3 tipom fotosinteze. Može i djelomično zamijeniti kalij u osmoregulaciji stanice.

Grupa 4. Mineralna hranjiva uključena u redoks reakcije: željezo (Fe), cink (Zn), bakar (Cu), nikal (Ni) i molibden (Mo).

U ovu se grupu ubrajaju mikroelementi koji imaju sposobnost promjene redoks potencijala, a to su ioni metala: željezo (Fe), cink (Zn), bakar (Cu), nikal (Ni) i molibden (Mo). Ioni ovih elemenata mogu višekratno reverzibilno oksidirati i reducirati se (npr. $Fe^{2+} \leftrightarrow Fe^{3+}$) te zbog toga imaju važnu ulogu u prijenosu elektrona i pretvorbi energije. Ovi se ioni obično nalaze vezani u većim molekulama poput citokroma, klorofila i proteina (obično enzimima).

Željezo

Željezo ima važnu ulogu kao komponenta koenzima uključenih u redoks reakcije (prijenos elektrona), poput citokroma. U tim reakcijama dolazi do reverzibilne oksidacije željeza iz Fe^{2+} u Fe^{3+}. Specifični simptom nedostatka željeza je međužilna kloroza listova, slično simptomima nedostatka magnezija. Za razliku od nedostatka magnezija, simptomi nedostatka željeza javljaju se na mladim listovima jer je željezo teško pokretljivo hranjivo unutar biljke. Do kloroze (žućenja) dolazi zbog toga što je željezo potrebno za sintezu klorofila u kloroplastima. Slaba pokretljivost željeza u biljci vjerojatno se javlja zbog vezivanja željeza u starijim listovima u obliku netopivih oksida i fosfata.

Cink

Ion cinka (Zn^{2+}) aktivator je mnogih enzima, a kod nekih biljaka potreban je i za biosintezu klorofila. Nedostatak cinka očituje se redukcijom rasta internodija, a biljke zaostaju u rastu i poprimaju rozetast izgled. Listovi također ostaju maleni i deformirani s naboranim rubovima. Ti simptomi javljaju se zbog poremećaja u biosintezi auksina (indol -3-octena kiselina ili IAA). Kod nekih biljaka (kukuruz, sirak i grah) na starijim listovima dolazi do intervenozne kloroze i pojave bijelih nekrotičnih pjega.

Bakar

Poput željeza, bakar je sastavni dio enzima uključenih u redoks reakcije, u kojima dolazi do njegove reverzibilne oksidacije iz Cu^+ u Cu^{2+}. Primjer proteina koji sadrži bakar je plastocijanin, a sudjeluje u transportu elektrona u svjetlosnim reakcijama fotosinteze. Primarni simptom nedostatka bakra je razvoj tamnozelenih listova koji sadrže nekrotične pjege. Nekrotične pjege najprije se javljaju na vrhovima mladih listova, a zatim se šire prema njihovoj bazi. Može doći i do uvijanja listova.

Nikal

Jedini poznati enzim koji sadrži nikal kod viših biljaka je ureaza. Nedostatak nikla uzrokuje nakupljanje uree u listovima, što dovodi do pojave vršne nekroze. U prirodi se vrlo rijetko događa nedostatak nikla jer biljke trebaju vrlo male količine ovog elementa. Nikal je važan element za kvržične bakterije (bakterije koje fiksiraju dušik).

Molibden

Ioni molibdena (Mo^{4+} do Mo^{6+}) ulaze u strukturu većeg broja enzima, uključujući nitrat reduktazu i nitrogenazu. Nitrat reduktaza je enzim odgovoran za redukciju nitrata do nitrita, a nitrogenaza pretvara plinoviti dušik u amonijak tijekom procesa fiksacije dušika (kod kvržičnih bakterija). Prvi simptomi nedostatka molibdena su međužilne kloroze i nekroze starijih listova. Zbog toga što je važan u metabolizmu dušika, nedostatak molibdena može izazvati simptome karakteristične za nedostatak dušika.

4. Transport otopljenih tvari

Unutrašnjost biljne stanice odijeljena je od okoline i apoplasta (prostora staničnih stijenki) uz pomoć plazmaleme (stanične membrane) izgrađene od fosfolipidnog dvosloja i proteina. Takva, relativno tanka tvorevina odvaja stabilnu, uravnoteženu unutrašnjost stanice od nestabilne vanjske okoline. Uz to što predstavlja hidrofobnu barijeru, stanična membrana ima regulatornu ulogu u transportu tvari u stanicu i iz nje. Takvu ulogu imaju i unutarstanične membrane (npr. tonoplast) koje odvajaju različite dijelove stanice. Plazmalema također prima signale i podražaje iz okoline, npr. signale od susjednih stanica, o prisutnosti patogena i sl.

Kretanje tvari (iona i molekula) iz jednog područja u drugo nazivamo transportom. U transportu tvari u stanicu i iz nje te unutar stanice ključnu ulogu imaju biomembrane. Međutim, membrane reguliraju i tzv. transport na velike udaljenosti, kao što je floemski transport.

U ovom ćemo poglavlju najprije objasniti kemijske i fizikalne principe koji omogućuju kretanje iona i molekula u otopinama, a zatim ćemo te principe upotrijebiti za objašnjavanje transporta tvari u biološkim sustavima.

4.1. Pasivni i aktivni transport

Prema Fickovu prvom zakonu, kretanje molekula difuzijom uvijek se javlja spontano, niz gradijent slobodne energije ili kemijskog potencijala, sve do postizanja ravnotežnog stanja. Takav način transporta, bez utroška energije, naziva se **pasivni transport**. Nakon postizanja ravnotežnog stanja dolazi do prestanka gibanja molekula, tj. do prestanka transporta.

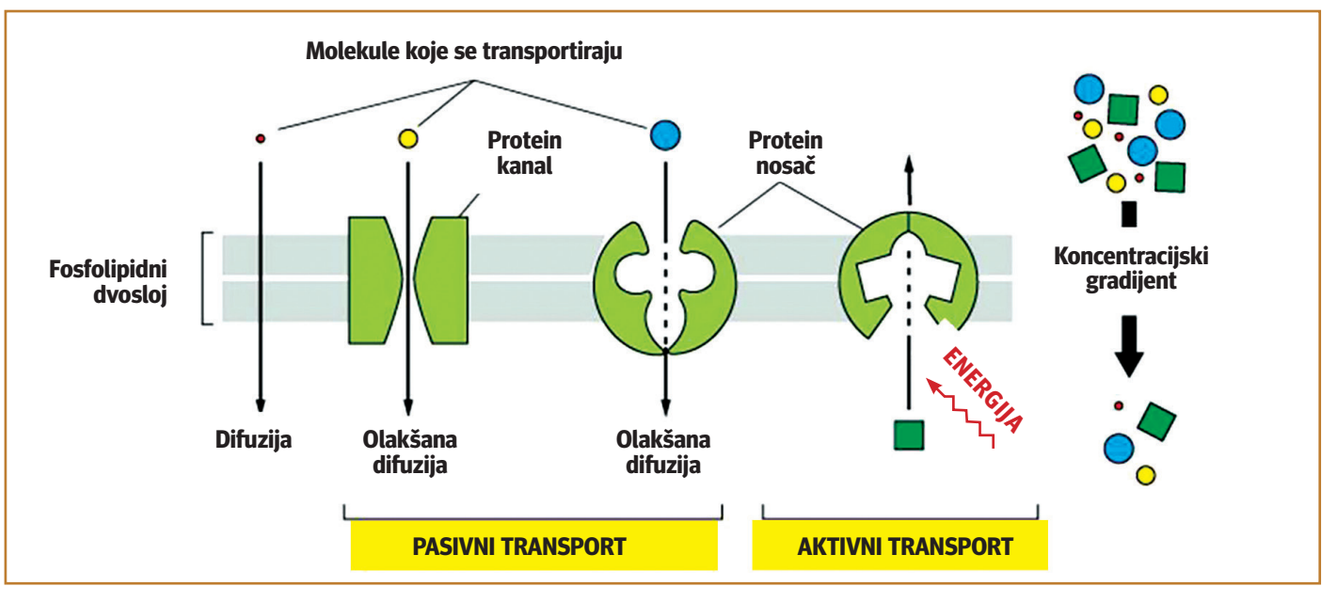
Kretanje molekula suprotno kemijskom potencijalu naziva se **aktivni transport**. On nije spontan te je za njegovo odvijanje potrebno uložiti energiju. Jedan od načina osiguranja energije potrebne za aktivni transport je hidroliza ATP-a. Transport tvari u biološkim sustavima može biti pod utjecajem triju pogonskih sila: **koncentracije, hidrostatskog tlaka i električnog polja.**

Kemijski potencijal neke otopine definiran je zbrojem tih triju veličina (koncentracije, hidrostatskog tlaka i elektrostatskog potencijala) i kemijskog potencijala u standardnim uvjetima. **Važnost koncepta kemijskog potencijala jest ta da u obzir uzima sve sile koje utječu na transport molekule.**

Kao što smo objasnili u poglavlju 2., kemijski potencijal vode (tj. vodni potencijal) ovisi o koncentraciji otopljenih tvari i hidrostatskom tlaku sustava.

Općenito, **difuzija** (pasivni transport) pokreće molekule iz područja višeg kemijskog potencijala u područje nižeg kemijskog potencijala (niz gradijent kemijskog potencijala). Kretanje molekula suprotno gradijentu kemijskog potencijala jest **aktivni transport**. Kada je riječ o transportu molekula (elektroneutralnih čestica), tada do difuzije dolazi zbog razlike u kemijskom potencijalu otopina u stanici i izvan nje (razlike u koncentraciji). No kada je u pitanju transport iona, uz razlike u koncentraciji važne su i razlike u nabojima koje nose ti ioni. Stoga do difuzije dolazi zbog razlika u **elektrokemijskom potencijalu** (koncentracija i naboj) između staničnog sadržaja i vanjske sredine.

Dakle, transport tvari kroz membranu može biti **1. pasivan** – odvija se bez utroška energije niz gradijent elektrokemijskog potencijala, i **2. aktivan** – odvija se uz utrošak energije (najčešće ATP-a) te je neovisan o elektrokemijskom potencijalu (**Slika 4.1.**).



Slika 4.1. Pasivni i aktivni transport tvari kroz membranu. Pasivni transport pokreće koncentracijski gradijent, javlja se spontano, bez utroška energije, a oblici su difuzija i olakšana difuzija. Difuzija se odvija kroz fosfolipidni dvosloj, a olakšana difuzija koristi membranske proteine. Aktivni transport odvija se uz utrošak energije i nije ovisan o koncentracijskom gradijentu

4.2. Transport iona kroz membranu

Pasivni transport – transport bez utroška energije

Pasivni transport odvija se difuzijom i/ili olakšanom difuzijom. To je kretanje molekula niz elektrokemijski gradijent, bez utroška energije (**Slika 4.1**).

Najvažnije svojstvo biomembrana jest njihova selektivna propusnost. Selektivna propusnost membrana je svojstvo koje određuje u kojoj će mjeri membrana biti propusna za određenu tvar.

Ovisi o građi membrana (tipu fosfolipida, broju i tipovima proteina i dr.) te o kemijskim svojstvima same otopine.

Biomembrane su dobro propusne za male nenabijene tvari (O_2, CO_2 i sl.), a slabije su propusne za velike molekule, ione i polarne molekule jer fosfolipidni dvosloj biomembrana predstavlja barijeru za polarne molekule, ione (npr. K^+, Ca^{2+}, Cl^- i dr.) i velike molekule (npr. šećere) koji teško difundiraju između molekula fosfolipida.

Propusnost biomembrana povećavaju **transportni proteini** koji imaju ulogu prenosioca iona i nekih polarnih molekula. U transportne proteine ubrajaju se tri glavne kategorije proteina: **kanali, nosači** i **crpke** (**Slika 4.2.**).

Transportni proteini specifični su za tvar koju prenose, stoga postoji velik broj različitih transportnih proteina u membranama.

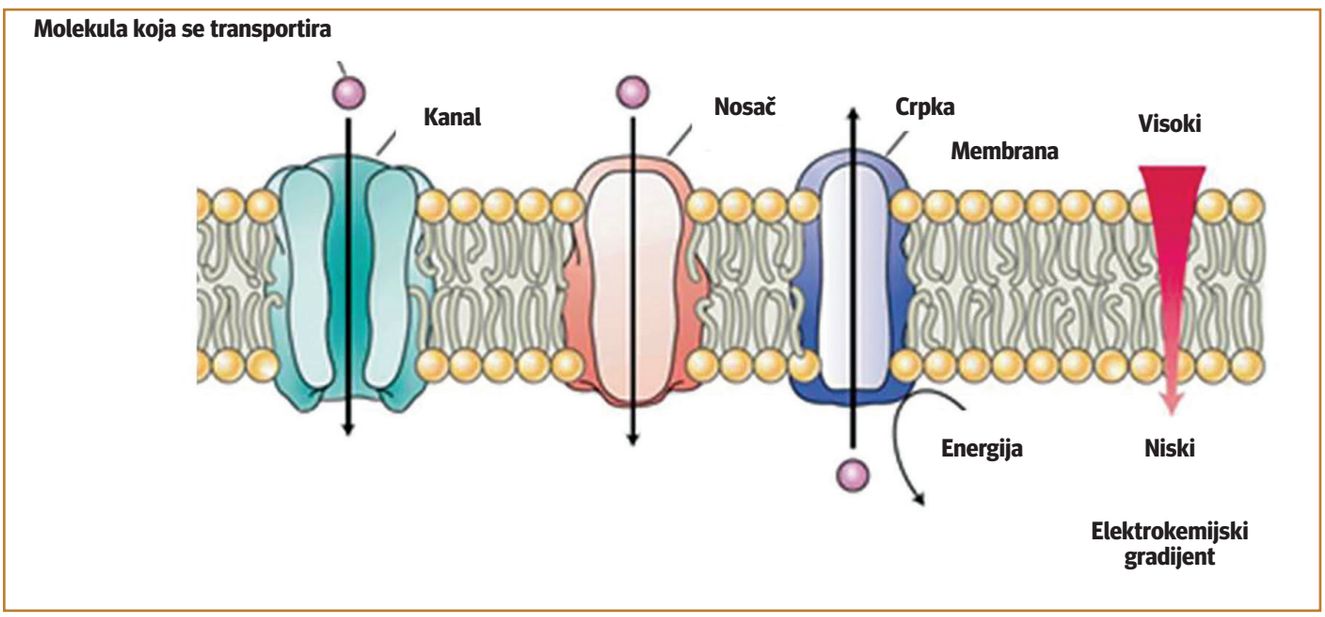
Iako su specijalizirani za transport određene tvari, njihova specifičnost nije apsolutna, što znači da mogu prenositi i neke druge tvari, npr. transporter zadužen za prijenos K^+ može prenositi i Na^+, iako preferira K^+.

Kanali

Kanali su membranski transportni proteini koji imaju funkciju selektivnih pora kroz koje molekule i ioni mogu difuzijom ulaziti u stanice i izlaziti iz nje. Veličina pore kanala te naboj površine određuju selektivnost takvih kanala. Osim toga, pora kanala nije stalno otvorena. Kanali imaju tzv. vrata na ulazu u poru koja se mogu otvarati i zatvarati ovisno o vanjskim podražajima, kao što su hormoni, svjetlost, fosforilacija itd. Transport kroz kanale uvijek je pasivan (bez utroška energije), a pogonska sila za kretanje tvari je razlika u elektrokemijskom potencijalu. Dakle, riječ je o difuziji, koja se u ovom slučaju naziva **olakšanom difuzijom** jer je potpomognuta membranskim proteinima. Kanalima se uglavnom transportiraju molekule vode i ioni.

Nosači

Nosači su membranski transportni proteini koji transportiraju određene tvari tako da ih vežu na sebe (za specifično aktivno mjesto). To svojstvo omogućuje nosačima visoku selektivnost u odnosu na supstrat koji prenose. Vezivanje supstrata izaziva konformacijske promjene u strukturi proteina, pri čemu se supstrat prebacuje na drugu stranu membrane. Transport završava disocijacijom supstrata s nosača. Zbog toga što zahtijeva konformacijske promjene proteina, takav tip transporta višestruko je sporiji u odnosu na transport tvari kroz kanale. Za razliku od transporta kroz kanale (pasivan), transport tvari uz pomoć nosača može biti pasivan ili aktivan. Kada je riječ o pasivnom transportu, tvari se kreću niz elektrokemijski gradijent te je riječ o **olakšanoj difuziji**.



Slika 4.2. Tipovi membranskih proteina koji sudjeluju u transportu tvari.

Crpke

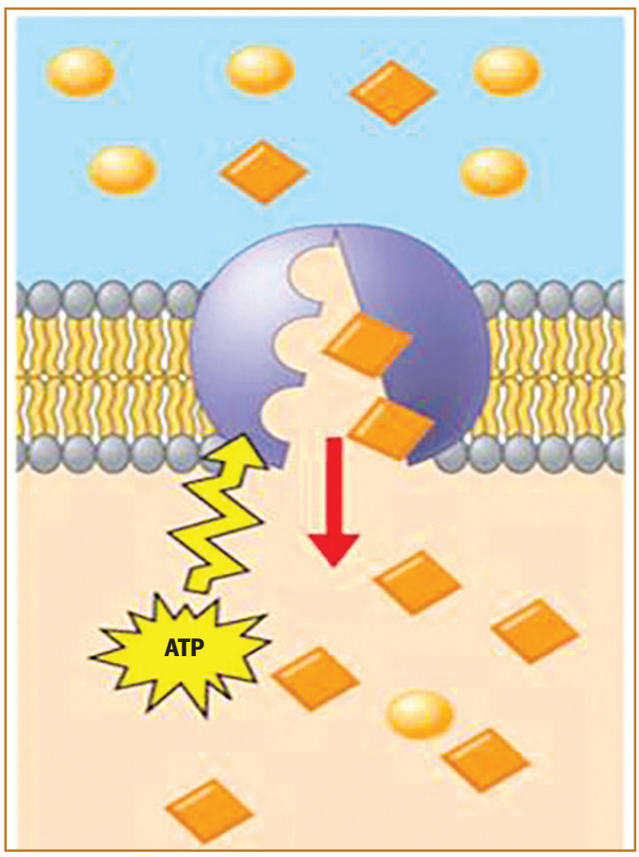
Aktivni transport – transport uz utrošak energije

Aktivni transport omogućuje transport tvari suprotno elektrokemijskom gradijentu, zbog čega taj proces zahtijeva utrošak energije. Za takav tip transporta zaduženi su membranski proteini **crpke,** a tip aktivnog transporta pri kojem dolazi do utroška energije (najčešće ATP-a) naziva se **primarni aktivni transport** (**Slika 4.3**).

Crpke koje hidroliziraju ATP i koriste oslobođenu energiju za transport tvari se nazivaju još i ATPaze. Ionske

crpke mogu se podijeliti na **elektrogene** i **elektroneutralne crpke**.

Elektrogeni transport podrazumijeva prijenos neto naboja preko membrane, dok kod elektroneutralnog transporta nema kretanja (prijenosa) neto naboja. Pojasnit ćemo ove tipove transporta primjerima. Kod životinjskih stanica Na^+/K^+ crpka (Na^+/K^+-ATPaza) izbacuje tri iona Na^+ iz stanice, a ubacuje dva iona K^+ u stanicu i time izaziva promjenu neto naboja, točnije dovodi do izbacivanja jednog pozitivnog naboja iz stanice. Ovo je, dakle, primjer elektrogenog transporta. Za razliku od nje, H^+/K^+ crpka (H^+/K^+-ATPaza) izbacuje jedan ion H^+ iz stanice, a ubacuje jedan ion K^+ u stanicu te nema promjene naboja. Takav tip transporta je elektroneutralan transport.



Slika 4.3. Primarni aktivni transport. Aktivni transport omogućuje transport tvari suprotno elektrokemijskom gradijentu, ali uz utrošak energije (ATP). Za aktivni transport zadužene su crpke (kod biljnih stanica najčešća je H^+-ATPaza, crpka koja uz utrošak energije izbacuje H^+ ione iz stanice)

Kod biljnih stanica osnovni tip transporta je **elektrogeni transport H^+**. Crpke koje izbacuju H^+ ione nazivaju se **H^+-ATPaze.** Ove crpke izbacuju H^+ iz stanice, čime izazivaju pojavu elektrokemijskog gradijenta poprijeko membrane.

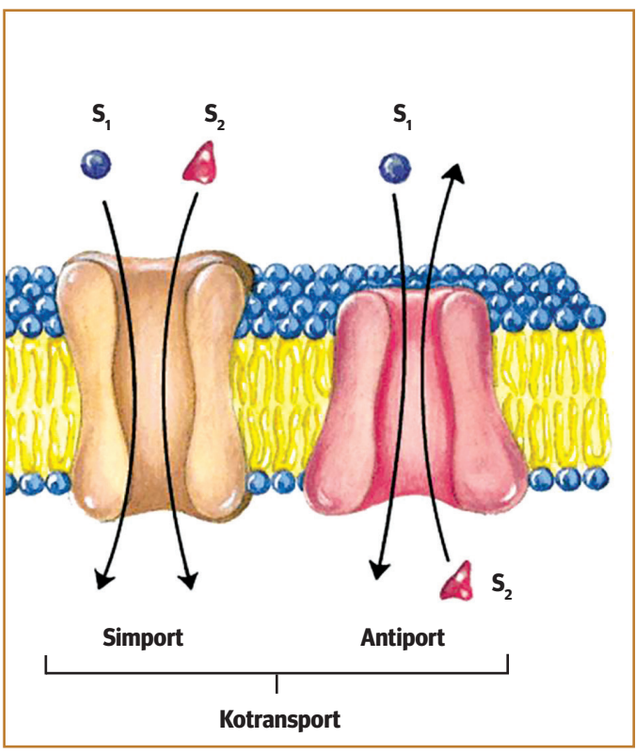
Većina crpki zadužena je za transport H^+ i Ca^{2+} iona. Stoga je potreban neki drugi mehanizam koji će omogućiti ulazak mineralnih hranjiva poput NO_3^-, SO_4^{2-} i HPO_4^{2-}, aminokiselina, peptida, saharoze i drugih tvari u stanicu. Drugi tip aktivnog transporta (uz primarni aktivni transport) koji omogućuje prijenos tvari suprotno elektrokemijskom potencijalu je **sekundarni aktivni transport** (**Slika 4.4**). Energija potrebna za sekundarni aktivni transport proizlazi indirektno od primarnog aktivnog transporta. Sekundarni aktivni transport koristi elektrokemijski potencijal koji se javlja radom crpki (ATPaza) u primarnom aktivnom transportu. Primjerice membranske H^+-ATPaze uz utrošak ATP-a, izbacuju H^+ iz stanice, čime povećavaju koncentraciju H^+ u izvanstaničnom prostoru, a smanjuju njegovu koncentraciju u stanici. Zbog toga pada pH vrijednost izvanstaničnog prostora, a porast koncentracije H^+ iona na vanjskoj strani membrane ujedno uzrokuje promjenu membranskog potencijala. Elektrokemijski potencijal koji tako nastaje predstavlja izvor energije potrebne za transport tvari suprotno njihovu elektrokemijskom gradijentu.

Postoje dva tipa sekundarnog aktivnog transporta: **simport** i **antiport**.

Simport (**Slika 4.4**) predstavlja sekundarni aktivni transport u kojem se dvije tvari istodobno kreću u istom smjeru.

Antiport (**Slika 4.4**) predstavlja sekundarni aktivni transport pri kojem se dvije tvari kreću u suprotnim smjerovima.

Kod oba tipa sekundarnog aktivnog transporta ioni ili otopljene tvari transportiraju se suprotno svom elektrokemijskom gradijentu, ali energija potrebna za to kretanje ne dolazi od hidrolize ATP-a, nego se koristi energija elektrokemijskog gradijenta protona (H^+ iona).



Slika 4.4. Tipovi sekundarnog aktivnog transporta (simport i antiport). Sekundarni aktivni transport koristi energiju primarnog aktivnog transporta i elektrokemijski gradijent koji proizlazi iz primarnog transporta

5. Fotosinteza

Život na Zemlji ovisi o energiji Sunca. Fotosinteza je jedini proces koji koristi energiju Sunca za sintezu organskih spojeva. Velik udio energije na našem planetu potječe od fotosinteze koja se odvija u današnje vrijeme ili se odvijala u pradavno doba (fosilna goriva). Riječ fotosinteza doslovno znači sinteza spojeva uz pomoć svjetlosti. U ovom ćemo poglavlju objasniti kako fotosintetski aktivni organizmi koriste svjetlosnu energiju da bi stvorili organske spojeve (ugljikohidrate). U procesu fotosinteze biljke koriste svjetlosnu energiju da bi od ugljikova dioksida i vode stvorile organsku tvar, a pritom nastaje kisik.

Energija pohranjena u obliku organske tvari omogućuje odvijanje životnih procesa u biljnoj stanici. Proces fotosinteze možemo podijeliti na svjetlosne reakcije i Calvinov ciklus (reakcije u tami). Reakcije u tami nazivaju se još i reakcije neovisne o svjetlosti, Calvinov ciklus ili Calvin-Bensonov ciklus. Naziv reakcije u tami nije točan jer se ove reakcije ne odvijaju noću, nego tijekom dana u stromi kloroplasta, a za odvijanje su im potrebni produkti svjetlosnih reakcija. Nadalje, mehanizmi aktivacije nekoliko enzima Calvinova ciklusa na indirektan su način ovisni o svjetlosnoj energiji U prvom poglavlju objasnit ćemo građu fotosintetskog aparata, ulogu svjetlosne energije u fotosintezi i svjetlosne reakcije fotosinteze. U drugom poglavlju objasnit ćemo Calvinov ciklus, proces u kojem dolazi do sinteze prvih organskih spojeva. Na kraju ćemo se osvrnuti na različite tipove fotosinteze i utjecaj ekoloških uvjeta na proces fotosinteze.

5.1. Svjetlosne reakcije

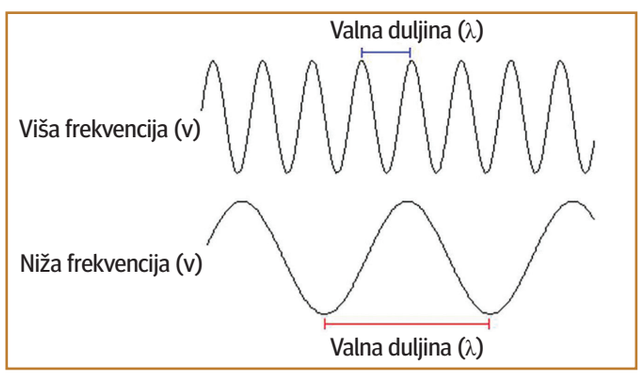
Fotosintetski najaktivnije tkivo kod viših biljaka je mezofil lista. Stanice mezofila sadrže veliki broj kloroplasta, organela koje sadrže pigmente specijalizirane za apsorpciju svjetlosti – klorofile. Tijekom fotosinteze biljke koriste svjetlosnu energiju kako bi oksidirale vodu, pri čemu nastaje O_2, te kako bi reducirale CO_2 i stvorile organske spojeve, uglavnom ugljikohidrate. Taj proces koji završava redukcijom CO_2 i nastankom organskog spoja uključuje velik broj reakcija koje se mogu podijeliti na svjetlosne reakcije (tilakoidne reakcije) i reakcije u tami (reakcije fiksacije CO_2). Svjetlosne reakcije odvijaju se u specijaliziranim biomembranama kloroplasta, tzv. tilakoidnim membranama (***vidi poglavlje 1.2.5.***). Krajnji produkti svjetlosnih reakcija su molekule bogate energijom ATP i NADPH koje će se koristiti u reakcijama u tami, tj. za fiksaciju CO_2. Reakcije fiksacije CO_2 (Calvinov ciklus ili reakcije u tami) odvijaju se u stromi kloroplasta (o ovim reakcijama govorit ćemo u poglavlju 5.2.). U svjetlosnim reakcijama svjetlosna se energija pretvara u kemijsku energiju (ATP i NADPH) uz pomoć dvaju proteinskih kompleksa koji se nalaze na tilakoidnim membranama. Ti se proteinski kompleksi nazivaju fotosustavi. Svjetlosna energija pokreće niz oksidoreduktivnih reakcija u kojima sudjeluju proteinski kompleksi na tilakoidnim membranama koji se ponašaju kao donori i akceptori elektrona. Elektroni završavaju na $NADP^+$ koji reduciraju u NADPH. Fotosustavi nadoknađuju elektrone utrošene na redukciju $NADP^+$ oksidacijom vode, pri čemu se razvija kisik. Energija transporta elektrona koristi se za stvaranje elektrokemijskog gradijenta poprijeko tilakoidne membrane koji koristi enzim ATP sintaza za sintezu ATP-a.

Kako bismo razumjeli svjetlosne reakcije, moramo objasniti osnovna svojstva svjetlosne energije, građu fotosustava i pigmenata koji sudjeluju u fotosintezi.

5.1.1. Svjetlost

Jedno od najvećih otkrića fizike u dvadesetom stoljeću jest da svjetlost ima svojstva čestice i vala. Valna svojstva svjetlosti opisuju valna duljina, koja se označava grčkim slovom lambda (λ), a izražava se u jedinicama nanometara (nm), i frekvencija, koja se označava grčkim slovom ni (ν), a izražava se u jedinicama hertza (Hz). Valna duljina (λ) predstavlja duljinu vala između dva uzastopna maksimuma (**Slika 5.1.**). Frekvencija (ν) predstavlja broj maksimuma koji prođu pokraj promatrača u jedinici vremena. Međuodnos brzine vala, frekvencije i valne duljine opisuje sljedeća jednadžba: $C = \lambda\nu$

Pri čemu je c – brzina svjetlosti, λ – valna duljina i ν – frekvencija.

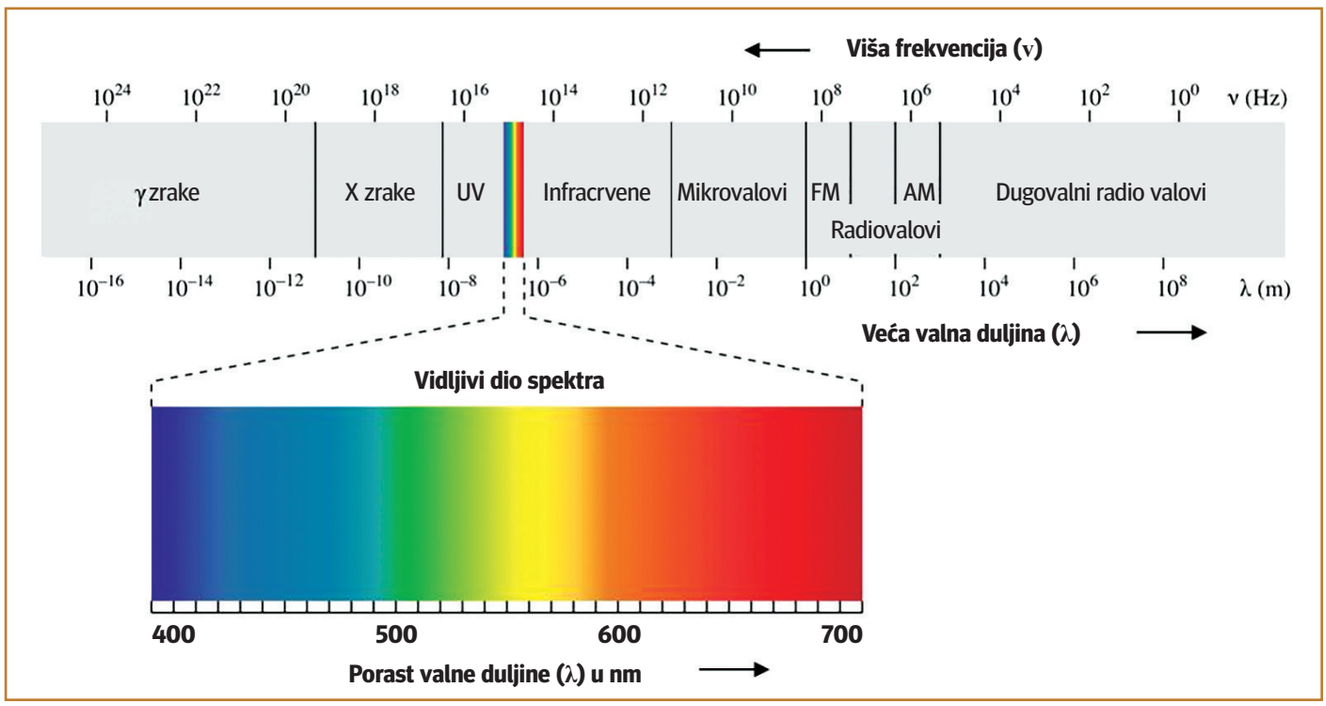


Slika 5.1. Valna svojstva svjetlosti.

Svjetlost ima i čestični karakter, tj. ponaša se kao čestica. Svjetlosne „čestice" nazivamo **fotoni**. Svaki foton nosi energiju koju nazivamo **kvant**. Energija fotona ovisi o frekvenciji svjetlosti, što opisuje Planckov zakon: Pri čemu je *h* – Planckova konstanta ($6{,}625 \times 10^{-34}$ J s). Iz gornje jednadžbe vidljivo je da su valna duljina i frekvencija obrnuto proporcionalne, tj. što je valna duljina kraća, to je frekvencija viša i obrnuto. Stoga elektromagnetska zračenja kraćih valnih duljina imaju višu frekvenciju, a elektromagnetska zračenja duljih valnih duljina imaju nižu frekvenciju (**Slika 5.1.**)

Što je frekvencija viša, to je i energija veća i obrnuto, što je frekvencija niža, to je i energija tog elektromagnetskog zračenja manja, pa će svjetlost većih (duljih) valnih duljina imati nižu frekvenciju i manju energiju, a svjetlost kraćih valnih duljina višu frekvenciju i veću energiju.

Sunčeva svjetlost zapravo je poput kiše fotona različite frekvencije i valnih duljina (**Slika 5.2**). Ljudsko je oko osjetljivo samo na neke frekvencije koje vidimo kao boje te taj dio sunčeve svjetlosti nazivamo **vidljivi dio** elektromagnetskog zračenja (400 - 700 nm). Vidljivi dio spektra (400 - 700 nm) pokreće fotosintezu.



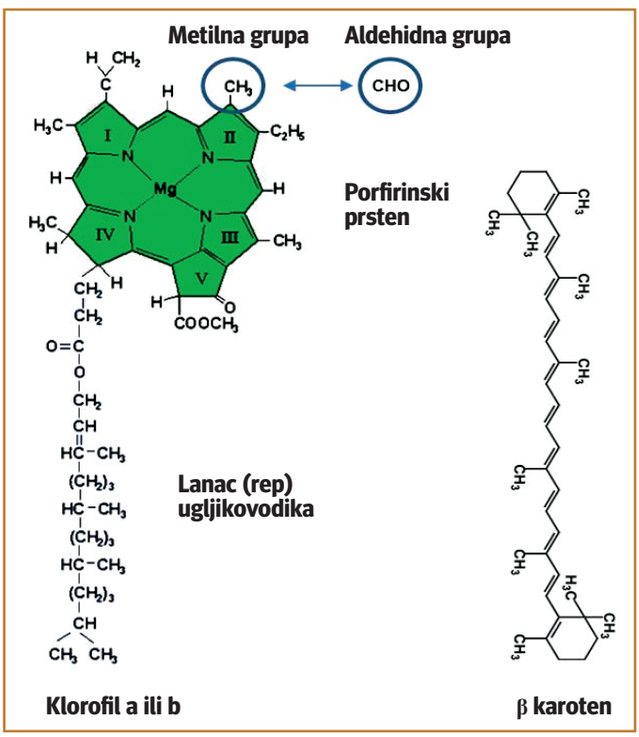
Slika 5.2. Elektromagnetski spektar. Valna duljina i frekvencija obrnuto su proporcionalne. Vidljivi dio spektra nalazi se u uskom području od 400 do 700 nm, a taj dio spektra pokreće i fotosintezu

5.1.2. Fotosintetski pigmenti

Za apsorpciju svjetlosne energije zaduženi su pigmenti kloroplasta. Strukture nekih pigmenata prikazane su **slikom 5.3.** Klorofili su osnovni pigmenti zaduženi za apsorpciju svjetlosti, no uz njih u apsorpciji svjetlosti sudjeluju i druge vrste pigmenata.

Klorofil *a* i *b* su pigmenti zastupljeni u biljkama (*c* i *d* u cijanobakterijama). Okosnicu građe klorofila čini **porfirinski prsten**, na koji je vezan dugačak lanac ugljikovodika (**Slika 5.3.**). Ovaj lanac (rep) ugljikovodika služi za učvršćivanje molekule klorofila u hidrofobni dio tilakoidnih membrana. U porfirinskom prstenu nalaze se mnoge dvostruke kovalentne veze koje su izvor labavo vezanih elektrona, što omogućuje klorofilu oksidoreduktivne procese (otpuštanje i primanje elektrona).

Uz klorofile, u kloroplastima se nalaze pigmenti koje ubrajamo u skupinu **karotenoida**. Karotenoidi su narančasto-crveni pigmenti građeni od dugačkih linearnih lanaca ugljikovodika bogatih dvostrukim vezama (**Slika 5.3.**). Najpoznatiji pigment iz skupine karotenoida je β-karoten. Karotenoidi su integralni elementi tilakoidnih membrana i prisutni su u svim fotosintetskim organizmima. Energija valnih duljina koje apsorbiraju karotenoidi prenosi se na klorofile koji će pokretati fotosintezu. Zbog tog svojstva karotenoide smatramo **pomoćnim pigmentima**. Osim apsorpcije dijela fotosintetskog spektra svjetlosti, karotenoidi štite kloroplaste od fotooksidacije (oštećenja izaz-



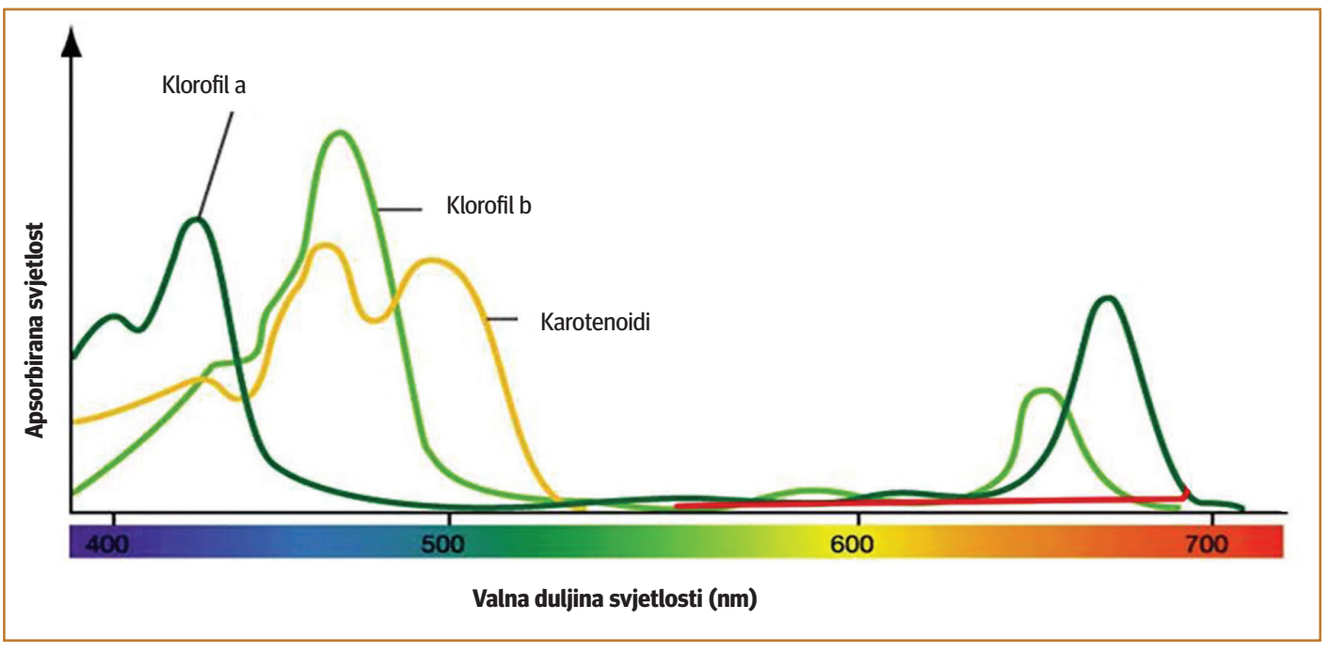
Slika 5.3. Struktura nekih pigmenata kloroplasta (klorofila i β karotena). Zaokruženi radikali na porfirinskoj jezgri klorofila predstavljaju razliku u građi klorofila *a* (aldehidna grupa) i klorofila *b* (metilna grupa).

vanih visokim intenzitetom osvjetljenja).

Kada neka molekula apsorbira ili emitira svjetlost, ona mijenja svoje elektronsko stanje, tj. elektroni prelaze iz jedne energetske razine u drugu. Klorofile ljudsko oko zamjećuje kao zelene pigmente jer oni apsorbiraju svjetlost uglavnom crvenog i plavog dijela spektra, a odbijaju zeleni dio spektra (oko 550 nm) (**slika 5.4.**). **Kada klorofil apsorbira svjetlost, on iz osnovnog stanja prelazi u pobuđeno stanje**, pri čemu dolazi do promjene rasporeda elektrona, tj. elektroni prelaze u višu energetsku razinu.

Apsorpcija plave svjetlosti uzrokuje prijelaz elektrona na energetsku razinu koja je viša u usporedbi s energetskom razinom nakon apsorpcije crvene svjetlosti, zato što plava svjetlost ima veću energiju (kraće valne duljine, a viša frekvencija) od crvene svjetlosti. U pobuđenom stanju klorofil ostaje samo nekoliko nanosekundi (10^{-9} s). Zbog takve izrazite nestabilnosti proces kojim se pobudna energija klorofila prenosi u fotokemijske reakcije izrazito je brz. Četiri su mogućnosti za oslobađanje energije klorofila pri povratku iz pobuđenog u osnovno stanje:

1. **Fluorescencija** – pri povratku u osnovno stanje klorofil reemitira dio energije u obliku fotona. Emitirani fotoni (svjetlost) nešto su duljih valnih duljina (niže energije) od valnih duljina koje je klorofil apsorbirao, zato što se dio energije gubi u obliku topline prije nego što dođe do fluorescencije.
   Zbog toga je fluorescencija klorofila u crvenom dijelu spektra.
2. **Toplina** – pri povratku u osnovno stanje klorofil gubi dio energiju u obliku topline.
3. **Prijenos energije** – klorofil može prenijeti energiju na neku drugu molekulu.
4. **Fotokemijske reakcije** – energija ekscitacije klorofila može poslužiti za pokretanje kemijskih reakcija (fotokemijskih reakcija). Ove se reakcije odvijaju na tilakoidnim membranama, a sastoje se od prijenosa elektrona s pobuđenog klorofila *a* (u reakcijskim središtima fotosustava) kroz niz proteinskih nosača do $NADP^+$ koji reduciraju u NADPH. Fotokemijske reakcije fotosinteze među najbržim su poznatim kemijskim reakcijama.



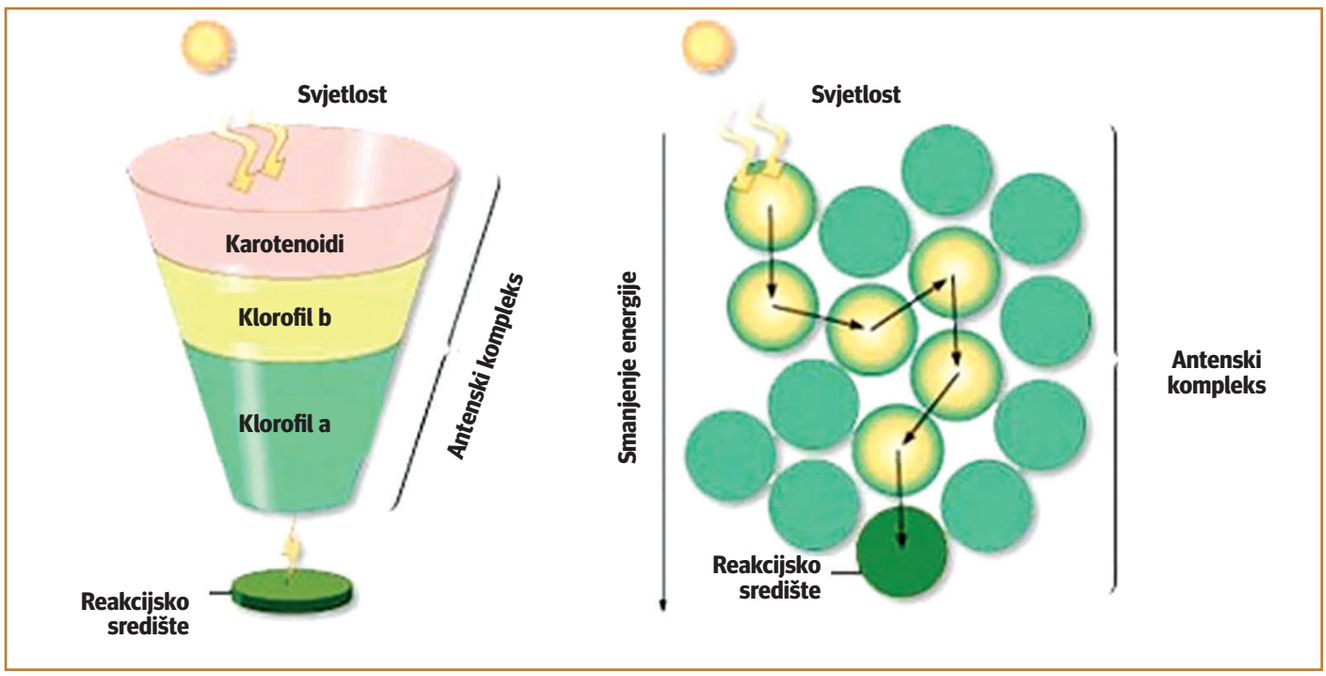
Slika 5.4. Apsorpcija svjetlosti kod nekih fotosintetskih pigmenata.

5.1.3. Organizacija fotosintetskog aparata

Fotosinteza se odvija u kloroplastima. Svjetlosne reakcije odvijaju se na sustavu unutarnjih membrana kloroplasta, tzv. tilakoidnim membranama. Svi fotosintetski pigmenti smješteni su na tilakoidnim membranama. Većina tilakoidnih membrana su spljoštene i poredane jedna na drugu, a takvi tilakoidi nazivaju se grana tilakoidi. Pojedinačne tilakoidne membrane koje međusobno povezuju grana tilakoide nazivaju se stroma tilakoidi. Reakcije redukcije ugljikova dioksida (Calvinov ciklus) odvijaju se u stromi kloroplasta. Tilakoidne membrane građene su od fosfolipidnog dvosloja u kojem se nalaze mnogi integralni proteini ključni za odvijanje fotosinteze. Položaj i orijentacija integralnih proteina u tilakoidnim membranama vrlo je specifična. Svi proteini na tilakoidnoj membrani jednim su dijelom okrenuti i uronjeni u stromu kloroplasta, a drugim su dijelom uronjeni u tilakoidni prostor koji se naziva **lumen**. Klorofili i pomoćni pigmenti nekovalentnim su vezama povezani za proteine u tilakoidnim membranama te čine pigment-protein komplekse.

Kompleksi zaduženi za apsorpciju svjetlosti nazivaju se **fotosustavi**. Postoje dva tipa fotosustava, **fotosustav I** ili **PSI** i **fotosustav II** ili **PSII.** Fotosustavi su građeni od **reakcijskog središta** i **antenskih molekula (pigmenata u kompleksu s proteinima)** (**Slika 5.5.**). U reakcijskom središtu fotosustava nalaze se dvije molekule **klorofila *a***. U sastavu antenskih pigmenata nalaze se klorofil *a*, klorofil *b* i različiti karotenoidi. Uloga antenskih pigmenata je

primanje svjetlosne energije i prijenos energije do reakcijskog središta. Prijenos energije s antenskih pigmenata do reakcijskog središta temelji se na **rezonanciji.** Prijenos energije s antenskih pigmenata na klorofil *a* u reakcijskom središtu vrlo je efikasan, prosječno se 95-99% apsorbirane energije fotona uspješno prenese do klorofila *a* u reakcijskom središtu. Postoji znatna razlika u prijenosu energije među antenskim pigmentima i prijenosa elektrona koji započinje u reakcijskom središtu. Prijenos energije je fizikalni proces (zbog rezonancije), dok prijenos elektrona uključuje i kemijske promjene molekule (oksidacija i redukcija).



Slika 5.5. Građa fotosustava (lijevo) i prijenos energije s antenskih pigmenata do reakcijskog središta fotosustava (desno)

Pigmenti u antenama specifično su poredani. Njihov smještaj čini svojevrsni energetski lijevak. Apsorpcijski maksimum pigmenata (valne duljine koje najbolje apsorbira pojedini pigment) u antenama povećava se kako se pigmenti približavaju reakcijskom središtu. Drugim riječima, pigmenti udaljeniji od reakcijskog središta bolje apsorbiraju svjetlost kraće valne duljine (veće energije), a pigmenti bliže reakcijskom središtu bolje apsorbiraju svjetlost duljih valnih duljina (manje energije).

Iz takve građe proizlazi da se pri prijenosu energije s pomoćnih pigmenata do reakcijskog središta razlika u energiji gubi u obliku topline (**Slika 5.5.**). Zbog toga što se dio energije gubi, klorofil *a* predstavlja svojevrsnu „zamku" za energiju i s njega se energija ne može natrag prenijeti na antenske pigmente (trebalo bi nadoknaditi razliku u energiji).

Takva građa antenskih pigmenata omogućuje ireverzibilni prijenos energije do reakcijskog središta (klorofila *a*) te njegovu ekscitaciju. Uz to, antenski pigmenti (pomoćni pigmenti – karotenoidi) štite tilakoidne membrane od fotooksidacije.

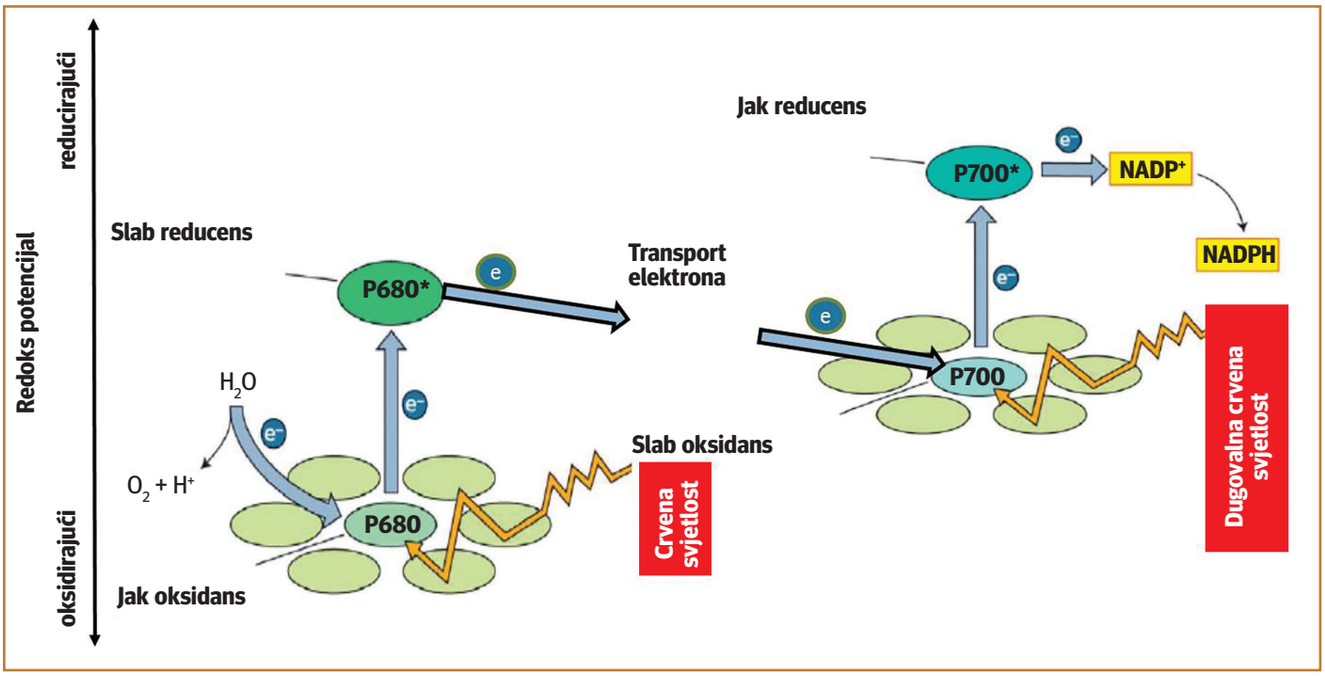
Klorofili smješteni u reakcijskim središtima fotosustava (PSI i PSII) apsorbiraju svjetlost različitih valnih duljina, tj, maksimumi apsorpcije spomenutih molekula se razlikuju. Reakcijski centar fotosustava I najviše apsorbira svjetlost valnih duljina 700 nm pa se naziva P700 (P označava pigment). Reakcijski centar fotosustava II najviše apsorbira svjetlost valnih duljina 680 nm, pa se naziva P680.

Fotosustav I najviše apsorbira dugovalnu crvenu svjetlost (valne duljine veće od 680 nm). Fotosustav II bolje apsorbira valne duljine u području crvene svjetlosti (680 nm), a dugovalna crvena (više od 680 nm) vrlo slabo pokreće rad PSII.

Primanjem elektrona fotosustav I (PSI) postaje vrlo jak reducens koji može reducirati $NADP^+$ u NADPH, a otpuštanjem elektrona on postaje slab oksidans. S druge strane, PSII primanjem elektrona postaje slab reducens, ali otpuštanjem elektrona postaje vrlo jak oksidans koji može oksidirati vodu.

PSII u svojoj oksidacijskoj fazi oksidira vodu, a u svojoj redukcijskoj fazi reducira PSI. PSI u svojoj oksidacijskoj fazi oksidira PSII, a u svojoj redukcijskoj fazi reducira $NADP^+$.

Tako s jedne strane dolazi do oksidacije vode i oslobađanja kisika, a s druge do nastanka reduciranog koenzima NADPH. Shematski prikaz ovakvog transfera elektrona prikazan je **slikom 5.6.**, a naziva se *zigzag*, odnosno **Z shema.**



Slika 5.6. Z shema svjetlosnih reakcija fotosinteze.

Fotosustav I i II nalaze se na tilakoidnim membranama, ali su fizički odvojeni. Fotosustav I smješten je uz rubove grana tilakoida i u stroma tilakoidima, a fotosustav II u grana tilakoidima. Ta fizička odvojenost fotosustava podrazumijeva da između njih postoji jedan ili više membranskih proteina koji će imati funkciju prijenosa elektrona između ta dva fotosustava. Između fotosustava II i fotosustava I nalazi se proteinski kompleks citokroma, **citokrom *b*$_6$*f***, koji je jednakomjerno raspoređen između grana i stroma tilakoida. Uz citokrome (integralni proteinski kompleks), na tilakoidnim membranama nalaze se molekule koje služe kao nosači elektrona, a koje mogu slobodno difundirati između grana i stroma tilakoida i tako prenositi elektrone između fotosustava. Ti su nosači **plastocijanin (PC)** i **plastokinon (PQ)**. Uz ove molekule, na tilakoidnim membranama nalaze se i enzimi **NADP$^+$ reduktaza,** koja reducira NADP$^+$ u NADPH, te **ATP sintaza,** zadužena za sintezu ATP-a. NADPH i ATP produkti su svjetlosnih reakcija koji će se koristiti u Calvinovu ciklusu za redukciju CO_2.

5.1.4. Mehanizmi prijenosa elektrona

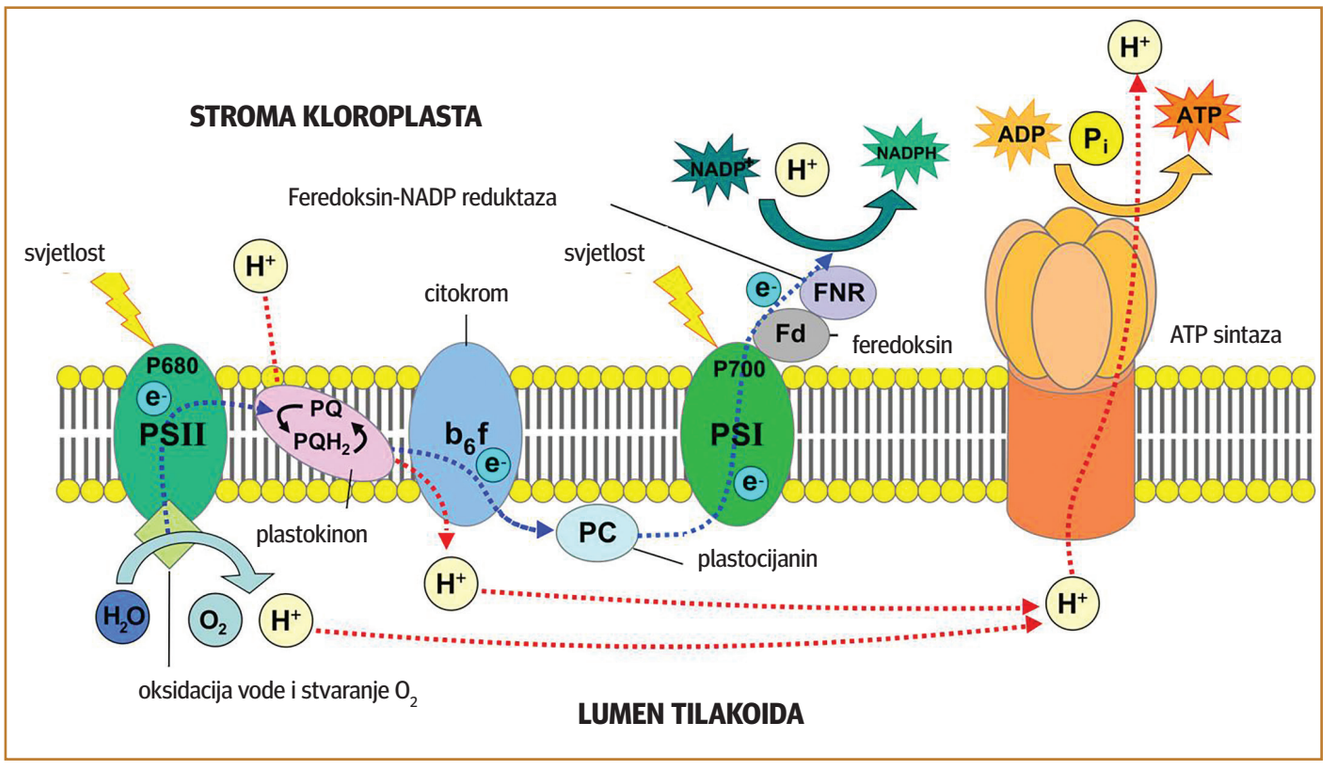
Sada kad smo objasnili građu fotosintetskog aparata, građu i ulogu pigmenata te svojstva svjetlosti koja će pokretati fotosintezu, možemo objasniti i kemijske reakcije uključene u prijenos elektrona tijekom fotosinteze. Podrobnije ćemo objasniti mehanizam prijenosa energije s pobuđenog klorofila te redukcije primarnog akceptora elektrona, a zatim i prijenos elektrona kroz fotosustav II i fotosustav I te oksidaciju vode kao primarnog izvora elektrona i redukciju NADP$^+$ kao krajnjeg akceptora elektrona. Objasnit ćemo i **kemiosmotsku hipotezu** fotofosforilacije, odnosno nastanka ATP-a.

Elektroni se od klorofila u reakcijskom središtu fotosustava prenose preko niza proteinskih nosača (**Slika 5.7.**). Svjetlosna energija uzrokuje ekscitaciju i izbacivanje elektrona iz molekula klorofila *a* koje se nalaze u reakcijskim središtima PSII (P680) i PSI (P700). Elektroni zatim prolaze kroz niz proteinskih nosača te elektroni s PSII reduciraju oksidiran PSI, a elektroni s PSI reduciraju NADP$^+$ u NADPH.

Gotovo svi kemijski procesi u svjetlosnim reakcijama fotosinteze odvijaju se na četiri velika proteinska kompleksa: **fotosustavu II, citokromu *b*$_6$*f*, fotosustavu I i ATP sintazi.**

Kao što je već navedeno, smještaj ovih proteinskih kompleksa u tilakoidnoj membrani specifičan je i omogućuje odvijanje fotokemijskih reakcija (**Slika 5.7.**):

1. PSII oksidira vodu u lumenu tilakoida, pri čemu oslobađa protone (H$^+$) u lumen tilakoida.
2. Citokrom b6f oksidira molekulu plastohidrokinona (PQH_2) koju je reducirao PSII i prenosi elektrone na PSI (preko plastocijanina). Oksidacija plastohidrokinona povezana je s prebacivanjem protona (H$^+$) iz strome u lumen tilakoida, pri čemu se stvara protonski gradijent poprijeko tilakoidne membrane.
3. PSI reducira NADP$^+$ u NADPH u stromi, uz pomoć feredoksina (Fd) i feredoksin-NADP$^+$ reduktaze (FNR).
4. ATP sintaza koristi protonski gradijent poprijeko tilakoidne membrane te omogućuje difuziju protona iz lumena u stromu, pri čemu sintetizira ATP (fotofosforilacija).



Slika 5.7. Svjetlosne reakcije fotosinteze. Transport elektrona i protona u tilakoidnim membranama odvija se uz pomoć četiriju proteinskih kompleksa.

Kao što je već navedeno, energija svjetlosti pokreće ovaj proces jer izaziva ekscitaciju specijalizirane molekule klorofila u reakcijskom središtu fotosustava (ili izravnom apsorpcijom ili, što je češće, prijenosom energije s antena). Elektron u vanjskoj ljusci (orbitali) klorofila vrlo je slabo (labavo) vezan za klorofil i vrlo se lako otpušta ako se u blizini nalazi molekula koja može služiti kao akceptor elektrona (oksidans).

Prva reakcija kojom se svjetlosna energija pretvara u kemijsku energiju, odnosno prva **fotokemijska reakcija** je transfer elektrona s ekscitiranog klorofila na primarni akceptor elektrona.

Otpuštanjem (gubitkom) elektrona reakcijsko središte fotosustava postaje oksidirano (pozitivno nabijeno – nedostaje mu elektron), a molekula koja je primila elektron (primarni akceptor) postaje reducirana (negativno nabijena – ima viška elektrona). Sljedeća je faza kritična za daljnje odvijanje svjetlosnih reakcija. Naime, oksidirani klorofil u reakcijskom središtu nastoji ponovno primiti elektron (nadoknaditi manjak), a reducirana molekula primarnog akceptora nastoji predati elektron (otpustiti višak). Ako se elektron s reduciranog akceptora vrati u oksidirani klorofil u reakcijskom središtu, sva apsorbirana svjetlosna energija gubi se u obliku topline i nema nastavka svjetlosnih reakcija.

Međutim, građa i poredak prenosioca elektrona u tilakoidnim membranama osigurava da se to ne dogodi. Umjesto povratka u oksidirani klorofil, elektroni s reduciranog primarnog akceptora prelaze na sekundarni akceptor i tako dalje niz lanac prenosioca elektrona poredanih u Z shemu. Krajnji akceptor elektrona je $NADP^+$ koji se reducira u NADPH.

Oksidirani klorofil u reakcijskom središtu fotosustava II primit će elektron od vode i reducirati se.

Oksidaciju vode vrši PSII, a odvija se prema jednadžbi :

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

Iz jednadžbe je vidljivo da dolazi do oksidacije dviju molekula vode (fotoliza vode), pri čemu se iz molekula izdvajaju četiri elektrona, a oslobađa se jedna molekula kisika i četiri protona.

Voda je vrlo stabilna molekula te oksidacija takve molekule predstavlja zahtjevan proces. Fotosinteza je jedini poznati biokemijski proces u kojem dolazi do oksidacije vode i oslobađanja kisika. Kisik u Zemljinoj atmosferi zapravo je nastao fotosintezom. Protoni nastali cijepanjem vode ostaju u lumenu tilakoida (oksidacija vode odvija se u lumenu).

Tako ti protoni pridonose nastanku elektrokemijskog gradijenta između lumena i strome. U procesu oksidacije vode vrlo važnu ulogu ima mangan (Mn^{2+}) koji djeluje kao kofaktor. Ion mangana (Mn^{2+}) prolazi kroz niz oksidacija poznatih pod nazivom ***S stanja***, a koja se označavaju sa S_0, S_1, S_2, S_3 i S_4. U nastanku pojedine molekule kisika uključena su četiri Mn iona.

Nakon nadoknade elektrona, tj. primitka elektrona iz vode (redukcije), klorofil *a* u reakcijskom središtu PSII ponovno može biti pobuđen i predati svoje elektrone (oksidirati). Primarni akceptor elektrona iz klorofila smještenog u reakcijskom središtu PSII je **feofitin.** Feofitin je molekula slična klorofilu u čijem se središtu umjesto iona magnezija nalaze dva iona vodika. Elektroni s feofitina prelaze na **plastokinon (PQ)** koji uz ova dva elektrona prima i dva protona iz strome i tako nastaje reducirani oblik **plastohidrokinon (PQH_2)**.

Tada plastohidrokinon disocira s reakcijskog centra te ulazi u tilakoidnu membranu i predaje dva elektrona

kompleksu citokroma b_6f. Za razliku od velikih proteinskih kompleksa, plastohidrokinon je mala nepolarna molekula koja se lako otapa u fosfolipidnom dvosloju tilakoidne membrane i difundira kroz njega.

Citokrom b_6f veliki je proteinski kompleks, koji sadrži veći broj prostetskih skupina i Fe-S proteine. Prijenos elektrona kroz **citokrom b_6f kompleks** služi i za transport protona (H^+) iz strome kloroplasta u lumen tilakoida. Transport elektrona kroz kompleks citokroma b_6f naziva se **Q ciklus**. U ovom procesu dolazi do oksidacije plastohidrokinona (PQH_2) i jedan od dva elektrona s PQH_2 prolazi kroz linearni lanac transportera elektrona preko **citokroma *f*** i **plastocijanina (PC)** do **fotosustava I (PSI)**. Tako dolazi do redukcije P700 u reakcijskom centru fotosustava I (PSI).

Drugi elektron otpušten s **plastosemikinona** (plastosemikinon nastaje iz plastohidrokinona nakon što on djelomično oksidira, tj. kada otpusti prvi elektron) ne prolazi linearni, nego ciklički transport. Drugi elektron s plastosemikinona prelazi na citokrom *b*, a dva protona vodika s plastosemikinona odlaze u lumen.

Na taj način iz plastosemikinona nastaje plastokinon (oksidirani oblik), a zatim citokrom *b* vraća elektron takvom oksidiranom plastokinonu i reducira ga u semikinon. Još je jedan takav ciklički transport elektrona potreban kako bi semikon primio još jedan elektron, a pritom se još dva protona vodika iz strome vežu za semikinon i tako se obnavlja plastohidrokinon.

Na taj način dva ciklusa oksidacije molekule plastohidrokinona i nastanka plastokinona omogućuju prijenos dva elektrona na P700 u reakcijskom središtu PSI te prijenos četiri H^+ iz strome u lumen.

Tako se transport elektrona od PSII preko sustava transportera do PSI koristi za prijenos protona vodika iz strome u lumen, čime se razvija protonski gradijent potreban za sintezu ATP-a.

Kao što je već objašnjeno, PSII i PSI fizički su odvojeni na tilakoidnoj membrani. Tako se PSII nalazi na grana tilakoidima, a PSI uz rubove grana tilakoida i na stroma tilakoidima. Takav raspored fotosustava zahtijeva prisutnost prenosioca elektrona koji će se moći kretati duž tilakoidne membrane, kako bi mogli prenijeti elektrone od PSII do PSI. Citokrom b_6f kompleks jednakomjerno je raspoređen i na grana i na stroma tilakoidima, no građen je od većeg broja proteinskih podjedinica, što ga čini fiksnim u tilakoidnim membranama. Ulogu mobilnih nosača elektrona između PSII i PSI imaju **plastokinon (PQ)** i **plastocijanin (PC).**

Plastocijanin je mali protein koji kao kofaktor sadrži ion bakra (Cu), a uloga mu je prijenos elektrona od citokroma b_6f do P700 u reakcijskom središtu PSI.

Fotoni svjetlosti izazivaju ekscitaciju klorofila u reakcijskom središtu PSI (P700), a njih hvata primarni akceptor elektrona. Kod PSI ulogu primarnog akceptora ima **filokinon** (poznatiji kao vitamin K1), a zatim se elektroni prenose preko serije od tri Fe-S proteina do **feredoksina**. P700 (PSI) nadoknađuje svoje elektrone od P680 (PSII).

Feredoksin je mali protein topiv u vodi koji predaje elektrone **feredoksin-$NADP^+$ reduktazi**, enzimu koji reducira $NADP^+$ u NADPH. Tako završava **neciklički tok elektrona** koji je započeo oksidacijom vode.

Ciklički tok elektrona

U nekim uvjetima dolazi do cikličkog toka elektrona u kojem elektroni ne završavaju na $NADP^+$. Elektroni s PSI preko plastohidrokinona prelaze na kompleks citokroma b_6f te se ponovno preko plastocijanina vraćaju u P700. Ciklički tok elektrona ne uključuje PSII, stoga nema oksidacije vode i nastanka kisika, također elektroni izbačeni iz P700 (PSI) cikličkim se tokom ponovno vraćaju u P700, dakle nema redukcije $NADP^+$ u NADPH, ali se takav tok elektrona koristi za prijenos H^+ iz strome u lumen tilakoida. Zbog toga nastaje protonski gradijent poprijeko tilakoidne membrane koji koristi ATP sintaza za sintezu ATP-a. Ovaj tip transporta elektrona važan je za nastanak ATP-a u stanicama žilnog ovoja kod biljaka s C_4 tipom fotosinteze, o čemu će biti riječi u poglavlju 5.4.1.

U modernoj poljoprivrednoj proizvodnji korovne vrste suzbijaju se primjenom herbicida. Mnogi herbicidi djeluju tako što blokiraju biosintezu klorofila, karotenoida, aminokiselina, lipida ili blokiraju normalnu diobu stanica. Neki od njih, npr. paraquat i diuron (DCMU), blokiraju sustav prijenosa elektrona. Diuron blokira transport elektrona s PSII na plastokinon, a paraquat djeluje kao akceptor elektrona koji prima elektrone s PSI, a zatim reagira s kisikom i stvara superoksidni anion (O_2^-), reaktivni oblik kisika koji je vrlo štetan i oksidira lipide i proteine tilakoidnih membrana.

5.1.5. Sinteza ATP-a – Fotofosforilacija

U prethodnom poglavlju opisan je način redukcije $NADP^+$ u NADPH. Uz to što se energija svjetlosti u svjetlosnim reakcijama koristi za redukciju $NADP^+$ u NADPH, ona služi i za sintezu ATP-a, u tzv. reakcijama **fotofosforilacije**. Mehanizam fotofosforilacije objašnjava **kemiosmotska teorija**. Kemiosmotska teorija objašnjava i sintezu ATP-a u mitohondriju tijekom oksidativne fosforilacije (***vidi poglavlje 7.5.***).

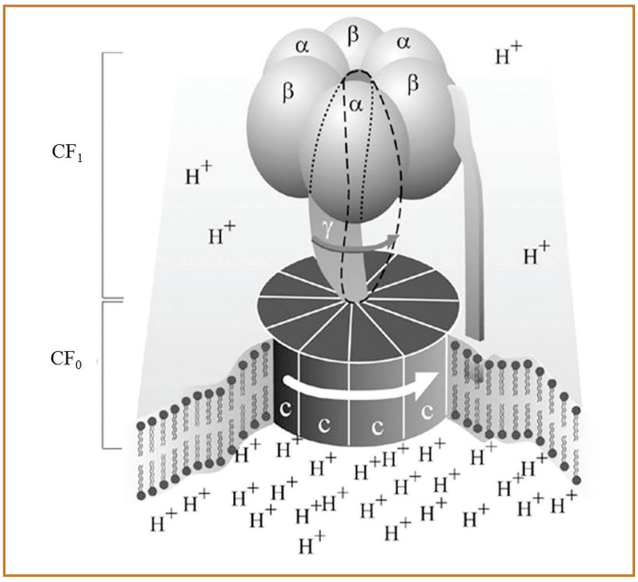
Princip kemiosmotske teorije leži u stvaranju razlike u koncentraciji iona i električnom naboju poprijeko biomembrane. Takav elektrokemijski gradijent izvor je energije za sintezu ATP-a.

Specifična građa tilakoidnih membrana koje odvajaju prostor strome kloroplasta od prostora lumena tilakoida te specifičan raspored i položaj fotosustava i proteinskih nosača u tilakoidnim membranama koji koriste energiju transporta elektrona za prijenos protona iz strome u lumen, omogućuju stvaranje elektrokemijskog gradijenta poprijeko membrane.

Uz to, oksidacijom dviju molekula vode (čime PSII nadoknađuje izgubljene elektrone) oslobađaju se četiri H^+ iona u lumen tilakoida, što dodatno povećava elektrokemijski gradijent poprijeko tilakoidne membrane. Tako stroma postaje alkalnija (manje H^+ iona), a lumen postaje kiseliji (više H^+ iona). Zbog elektrokemijskog gradijenta protoni difundiraju iz lumena u stromu, pri čemu ATP sintaza stvara ATP. Enzim zadužen za sintezu ATP-a je **ATP sintaza**.

Taj se enzim sastoji od dva dijela: hidrofobnog dijela

vezanog za membranu **CF_0** i dijela koji „strši“ u stromu **CF_1** (**Slika 5.8.**). CF_0 stvara kanal kroz membranu kroz koji protoni prolaze iz lumena u stromu. CF_1 se sastoji od nekoliko peptida, uključujući tri kopije istog α i β peptida, koji su raspoređeni u krug jedan nakon drugog (poput ploda oguljene naranče). CF_1 je dio ATP sintaze na kojem dolazi do sinteze ATP-a. Taj enzim zapravo je neka vrsta molekularnog motora. Prolazak H^+ kroz CF_0 izaziva rotaciju CF_1 (vjerojatno i CF_0), a za svaki puni krug CF_1 sintetizira se 3 ATP-a. Da bi se CF_1 okrenuo za jedan puni krug (sintezu 3 ATP-a) potrebno je da kroz CF_0 prođe 14 protona.



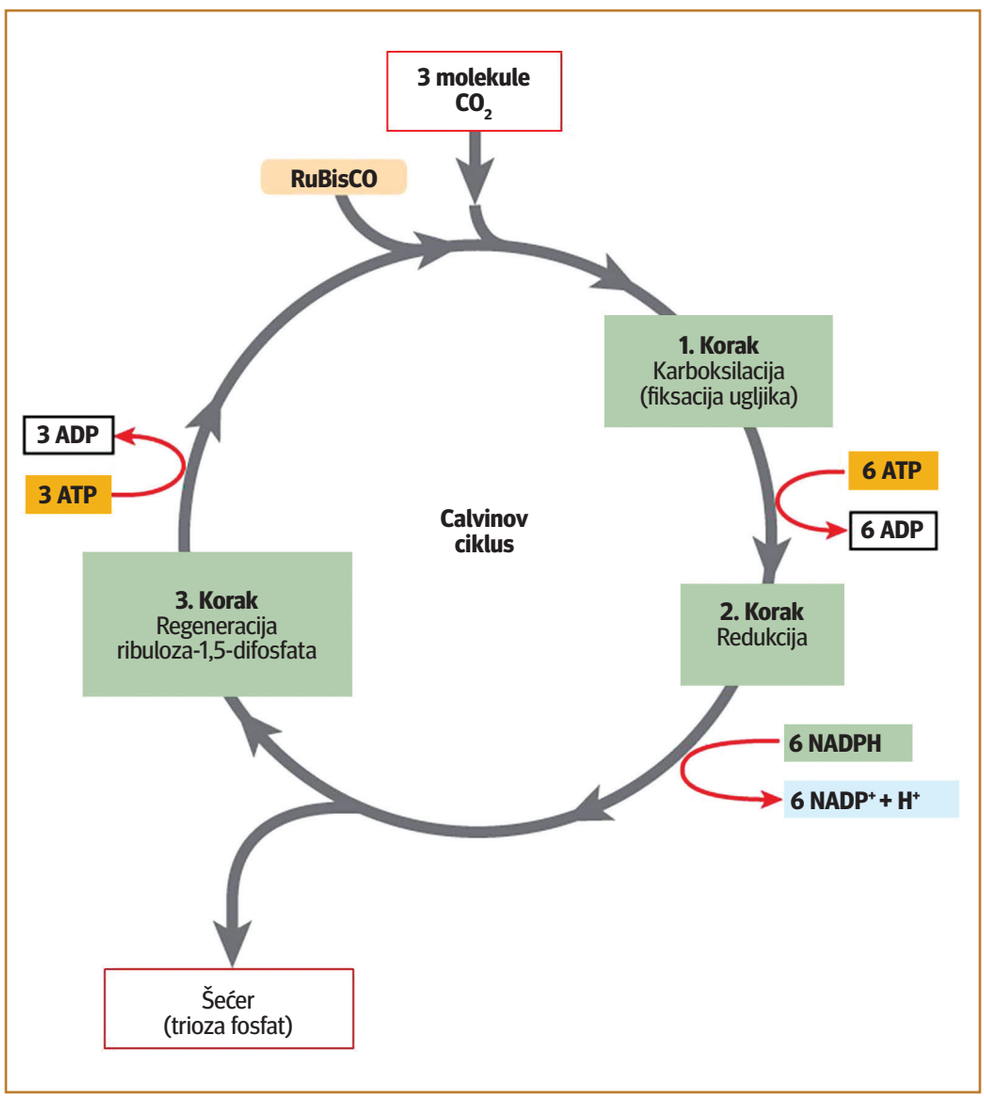
Slika 5.8. Enzimski kompleks ATP sintaza zadužen za fosforilaciju, odnosno sintezu ATP-a

5.2. Calvinov ciklus

U prošlom smo poglavlju prikazali reakcije koje se odvijaju na tilakoidnim membranama kloroplasta (svjetlosne reakcije), a u kojima se svjetlosna energija koristi za sintezu ATP-a i redukciju NADPH.

Nakon svjetlosnih reakcija slijede reakcije koje koriste ATP i NADPH za redukciju CO_2 u jednostavne ugljikohidrate. Te se reakcije odvijaju u **stromi** kloroplasta i nazivaju se **Calvinov ciklus (reakcije u tami)** ili **reakcije redukcije ugljika**.

Iako se nazivaju reakcijama u tami, njihovo odvijanje ovisi o spojevima koji nastaju u svjetlosnim reakcijama fotosinteze (ATP i NADPH), a također je nekoliko enzima koji u njima sudjeluju na posredan način regulirano svjetlošću. Najvažniji biokemijski put autotrofne fiksacije CO_2 predstavlja **Calvinov ciklus.** Prisutan je u mnogim prokariotima i svim fotosintetskim eu-



Slika 5.9. Tri koraka Calvinova ciklusa: 1. Karboksilacija akceptorske molekule (ribuloza-1,5-difosfat); 2. Redukcija kojom nastaju ugljikohidrati i 3. Regeneracija akceptorske molekule (ribuloza-1,5-difosfat)

kariotima. Calvinov ciklus sastoji se od tri koraka (faze): **karboksilacija, redukcija i regeneracija.** U tom procesu dolazi do enzimatskog spajanja između CO_2 iz atmosfere, vode i akceptorske molekule s pet ugljikovih atoma (ribuloza-1,5-difosfat), pri čemu nastaju dvije molekule međuprodukta građenog od tri ugljikova atoma (3-fosfoglicerat).

Taj međuprodukt zatim se reducira do gliceraldehid-3-fosfata (primarnog produkta fotosinteze), a energija potrebna za provođenje tih reakcija dolazi od ATP-a i NADPH. Ciklus završava regeneracijom ribuloza-1,5-difosfata. Calvinov ciklus shematski je prikazan **slikom 5.9.** Dakle, koraci Calvinova ciklusa su:

1. Karboksilacija akceptora CO_2, ribuloza-1,5-difosfata, pri čemu nastaju dvije molekule 3-fosfoglicerata (prvi stabilni spoj Calvinova ciklusa)

2. Redukcija 3-fosfoglicerata, pri čemu nastaje glic eraldehid-3-fosfat (ugljikohidrat, tj. trioza fosfat koji predstavlja produkt Calvinova ciklusa)

3. Regeneracija akceptora CO_2, ribuloza-1,5-difosfata, iz gliceraldehid-3-fosfata.

Reakcijama Calvinova ciklusa atmosferski se ugljikr educira i ugrađuje u organsku tvar koju će stanica moći koristiti.

5.2.1. Biokemijske reakcije Calvinova ciklusa

U prvom koraku Calvinova ciklusa (karboksilaciji) tri molekule CO_2 reagiraju s tri molekule ribuloza-1,5-difosfata te nastaje 6 molekula 3-fosfoglicerata (**Slika 5.10.** i **tablica 5.1.** - reakcija 1). Ovu reakciju katalizira enzim **ribuloza-1,5-difosfat- karboksilaza/oksigenaza** ili skraćeno **rubisko (RuBisCO).**

Nakon karboksilacijskog koraka slijedi redukcija (**Slika 5.10.** i **Tablica 5.1.** – reakcije 2 i 3). Tijekom redukcije dolazi do dviju reakcija u kojima se 3-fosfoglicerat reducira u gliceraldehid-3-fosfat. U tim se reakcijama troše ATP i NADPH nastali u svjetlosnim reakcijama:

1. Enzim 3-fosfoglicerat kinaza uz pomoć (utrošak) ATP-a fosforilira karboksilnu skupinu 3-fosfoglicerata, pri čemu nastaje 1,3-difosfoglicerat (**Slika 5.10.** i **Tablica 5.1.** – reakcija 2).

2. Enzim NADP-gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza katalizira reakciju redukcije 1,3-difosfoglicerata do gliceraldehid-3-fosfata. U ovoj reakciji kao donor elektrona potrebnih za redukciju 1,3-difosfoglicerata služi NADPH, (**Slika 5.10.** i **Tablica 5.1.** – reakcija 2).

Nakon redukcijskog koraka slijedi regeneracija ribuloza-1,5-difosfata (molekule koja služi kao akceptor CO_2 u reakciji karboksilacije).

Za normalno odvijanje Calvinova ciklusa i stalno vezivanje CO_2 iz atmosfere potrebna je i stalna obnova akceptorske molekule ribuloza-1,5-difosfata. U regeneracijskoj fazi od 5 molekula gliceraldehid-3-fosfata (5 molekula × 3 C atoma/molekula = 15 C atoma) dolazi do stvaranja (regeneracije) 3 molekule ribuloza-1,5-difosfata (3 molekule × 5 C atoma/molekula = 15 C atoma ukupno) (**Slika 5.10.**).

Dakle, nakon karboksilacijskog i redukcijskog koraka Calvinova ciklusa od 3 molekule ribuloza-1,5-difosfata (3 molekule × 5 C atoma/molekula = 15 C atoma) i 3 molekule atmosferskog CO_2 (3 molekule × 1 C atom/molekula = 3 C atoma) stvoreno je 6 molekula gliceraldehid-3-fosfata (6 molekula × 3 C atoma/molekula = 18 C atoma). Jedna molekula gliceraldehid-3-fosfata (3 C atoma) predstavlja primarni produkt Calvinova ciklusa, dok preostalih 5 molekula gliceraldehid-3-fosfata (5 molekula × 3 C atoma/molekula = 15 C atoma) sudjeluje u regeneraciji 3 molekule ribuloza-1,5-difosfata (3 molekule × 5 C atoma/molekula = 15 C atoma).

Regeneracijski korak Calvinova ciklusa odvija se u 9 reakcija (**Slika 5.10.** i **Tablica 5.1.** – reakcije 4-12).

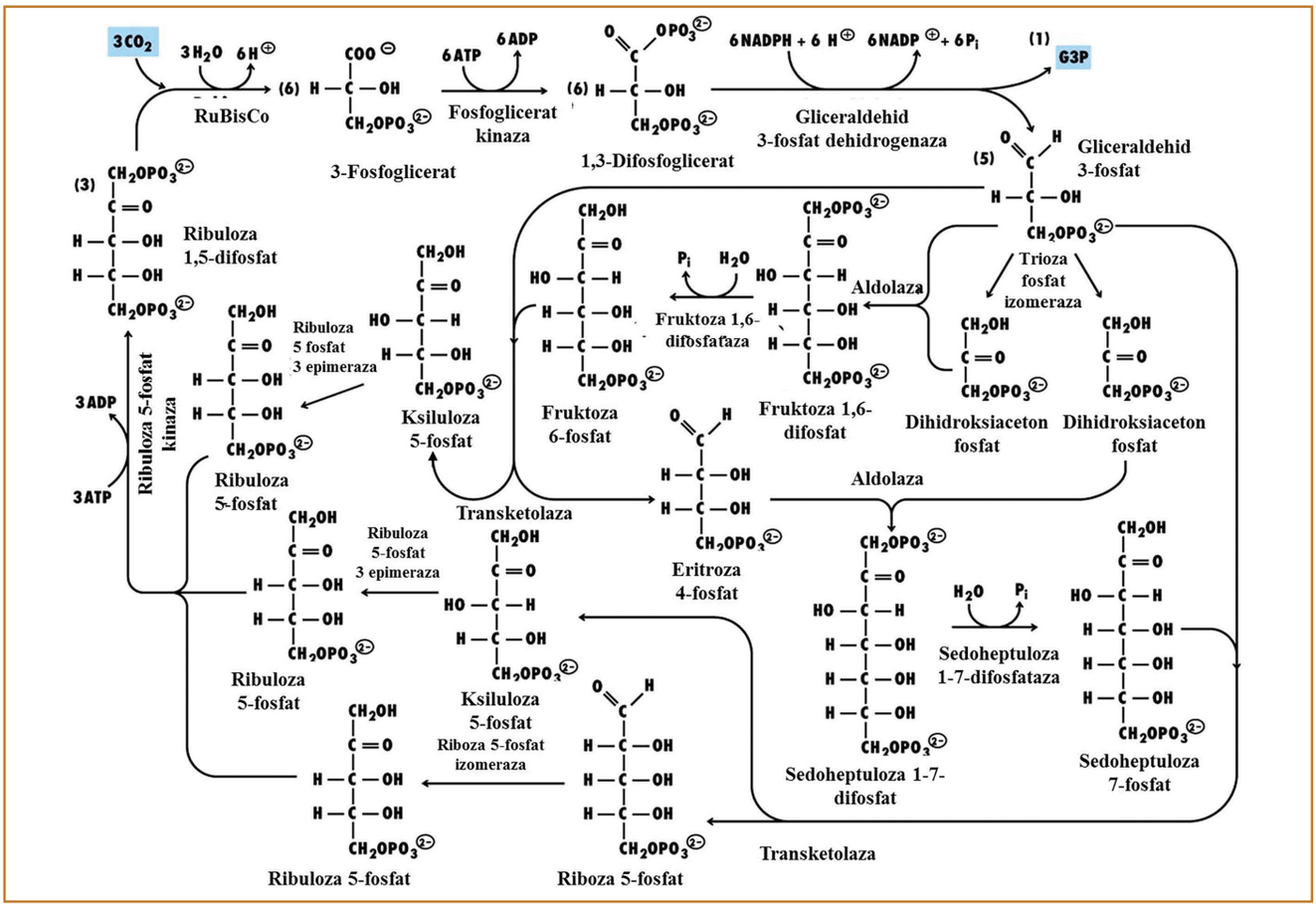
Karboksilacijska i redukcijska faza Calvinova ciklusa mogu se sumirati:

$3\ CO_2 + 3$ ribuloza-1,5-difosfat $+ 3\ H_2O + 6$ NADPH $+ 6\ H^+ + 6$ ATP $\rightarrow 6$ trioza-fosfata $+$ NADP$^+ + 6$ ADP $+ 6$ Pi

Da bi se spriječila potrošnja međuprodukata Calvinova ciklusa i omogućilo kontinuirano vezivanje CO_2, potrebna je stalna obnova (regeneracija) primarnog akceptora CO_2, tj. molekule ribuloza-1,5-difosfata.

Reakcija		Enzim
1.	(3) Ribuloza-1,5-difosfat + 3 CO_2 + 3 $H_2O \rightarrow$ 6 (3-fosfoglicerat) + 6 H^+	Rubisko (RuBisCO)
2.	6 3-fosfoglicerat + 6 ATP → 6 (1,3-difosfoglicerat) + 6 ADP	Fosfoglicerat kinaza
3.	6 (1,3-difosfoglicerat) + 6 NADPH + 6 $H^+ \rightarrow$ 6 gliceraldehid-3-fosfat + 6 NADP + 6 Pi	Gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza
4.	5 gliceraldehid-3-fosfat → 5 dihidroksiaceton-3-fosfat	Trioza fosfat izomeraza
5.	3 gliceraldehid-3-fosfat + 3 dihidroksiaceton-3-fosfat → 3 fruktoza-1,6-difosfat	Aldolaza
6.	3 fruktoza-1,6-difosfat + 3 $H_2O \rightarrow$ 3 fruktoza-6-fosfat + 3 Pi	Fruktoza-1,6-difosfataza
7.	2 fruktoza-6-fosfat + 2 gliceraldehid-3-fosfat → 2 eritroza-4-fosfat + 2 ksiluloza-5-fosfat	Transketolaza
8.	2 eritroza-4-fosfat + 2 dihidroksiaceton-3-fosfat → 2 sedoheptuloza-1,7-difosfat + 2 Pi	Aldolaza
9.	2 sedoheptuloza-1,7-difosfat + 2$H_2O \rightarrow$ 2 sedoheptuloza-7-fosfat + 2 Pi	Sedoheptuloza-1,7-difosfataza
10.	2 sedoheptuloza-7-fosfat + 2 gliceraldehid-3-fosfat → 2 riboza-5-fosfat + 2 ksiluloza-5-fosfat	Transketolaza
11.a	4 ksiluloza-5-fosfat → 4 ribuloza-5-fosfat	Ribuloza-5-fosfat epimeraza
11.b	2 riboza-5-fosfat → 2 ribuloza-5-fosfat	Ribuloza-5-fosfat izomeraza
12.	3 ribuloza-5-fosfat + 3 ATP → 3 ribuloza-1,5-difosfat + 3 ADP + 6H^+	Ribuloza-5-fosfat kinaza

Tablica 5.1. Reakcije Calvinova ciklusa



Slika 5.10. Reakcije Calvinova ciklusa.

5.2.2. Energetska učinkovitost Calvinova ciklusa

Da bi se u Calvinovu ciklusu kontinuirano vezivao CO_2, potreban je kontinuiran priljev energije u obliku ATP-a i NADPH koji dolaze iz svjetlosnih reakcija. Kao što se može vidjeti iz prethodno navedenih reakcija, za fiksaciju jedne molekule CO_2 utroše se 2 molekule NADPH i tri molekule ATP (vidi **tablicu 5.1.**). Ova nam činjenica omogućuje da izračunamo energetsku učinkovitost Calvinova ciklusa, tako da usporedimo energiju utrošenu u sintezi ugljikohidrata iz CO_2 s energijom oslobođenom pri oksidaciji NADPH i hidrolizi ATP-a. Pritom moramo uzeti u obzir sljedeće činjenice:

Oksidacijom jednog mola heksoze do CO_2 oslobađa se 2604 kJ, stoga je to i minimalna količina energije potrebna za sintezu jednog mola heksoze.

Sinteza jednog mola heksoze (fruktoza-6-fosfat) iz 6 molekula CO_2 troši 3126 kJ energije: oksidacijom 12 mola NADPH (12 mol × 217 kJ/mol) i hidrolizom 18 mola ATP (18 mol × 29 kJ/mol).

1 mol heksoze = 2604 kJ
12 NADPH = (12 x 217) = 2604 kJ iz NADPH
18 ATP = (18 x 29) = 522 kJ iz ATP
= 3126 kJ iz NADPH i ATP

Stoga proizlazi da je termodinamička učinkovitost Calvinova ciklusa blizu 90% .

Daljnjim raščlanjivanjem ovog preračuna možemo utvrditi da je sinteza ugljikohidrata iz CO_2 uglavnom redukcijski proces, jer se veći dio potrebne energije dobiva oksidacijom NADPH. Naime, oksidacijom 12 mola NADPH oslobađa se 2604 kJ, dok se hidrolizom 18 mola ATP-a oslobađa samo 522 kJ. Dakle, 83% ukupne energije potrebne za sintezu heksoze u Calvinovu ciklusu dolazi od oksidacije NADPH

Nadalje možemo izračunati maksimalnu termodinamičku učinkovitost fotosinteze (svjetlosne reakcije + Calvinov ciklus). Za to nam je potrebno poznavanje minimalnih kvantnih zahtjeva fotosinteze (količina apsorbiranih kvanta svjetlosti potrebnih za fiksaciju jednog mola CO_2) (***vidi poglavlje 5.1.***).

Primjerice, crvena svjetlost pri 680 nm sadrži oko 175 kJ po kvantnom molu fotona. Minimalni kvantni zahtjev obično iznosi 8 fotona svjetlosti za jedan mol CO_2. Stoga minimalna svjetlosna energija potrebna za redukciju 6 mola CO_2 u jedan mol heksoze iznosi 6 × 8 × 175 kJ = 8400 kJ.

Uzimajući u obzir da se oksidacijom mola heksoze oslobađa 2604 kJ energije, maksimalna ukupna termodinamička učinkovitost fotosinteze iznosi samo 33% Dakle, teoretska učinkovitost Calvinova ciklusa iznosi 90%, dok ukupna termodinamička učinkovitost fotosinteze iznosi 33%. Taj podatak govori u prilog tome da se veći dio energije gubi u svjetlosnim reakcijama, u procesu proizvodnje NADPH i ATP. No treba naglasiti da su ovo teoretske kalkulacije, koje su u stvarnim uvjetima u prirodi puno niže od navedenih.

5.3. C_2 fotosintetski oksidativni ciklus i fotorespiracija

Važno svojstvo enzima RuBisCO (ribuloza-1,5-difosfat-karboksilaza/oksigenaza) jest mogućnost vezivanja ugljičnog dioksida, ali i kisika na molekulu ribuloza-1,5-difosfata. Nakon reakcije enzima RuBisCO s kisikom dolazi do niza reakcija poznatih pod nazivom fotorespiracija. Taj proces, nazvan i C_2 oksidativni fotosintetski ciklus ugljika, djelomično obnavlja ugljik izgubljen zbog oksigenazne aktivnosti enzima RuBisCO, ali rezultira i gubitkom ugljikova atoma u obliku CO_2.

Vezivanje CO_2 u prvoj reakciji Calvinova ciklusa i vezivanje O_2 u procesu fotorespiracije dvije su međusobno konkurentne reakcije (katalizira ih isti enzim – RuBisCO koji ih veže na istu molekulu – ribuloza-1,5-difosfat. Uz to, CO_2 i O_2 vežu se na isto aktivno mjesto enzima). Calvinov ciklus detaljno smo opisali u prethodnom poglavlju te ćemo se sada zadržati na fotorespiraciji.

Nakon reakcije vezivanja molekule O_2 za ribuloza-1,5-difosfat nastaje nestabilni intermedijarni produkt koji se odmah raspada na molekule 2-fosfoglikolata i 3-fosfoglicerata (**Slika 5.11.**).

Fotorespiracija ili C_2 oksidativni fotosintetski ciklus ugljika (slika 5.11., tablica 5.2.) predstavlja niz reakcija kojima se nastoji spriječiti gubitak ugljika (2-fosfoglikolata). Kao što smo naveli, oksigenacijom ribuloza-1,5-difosfata nastaju 2-fosfoglikolat i 3-fosfoglicerat (**Tablica 5.2.**, reakcija 1). 3-fosfoglicerat se koristi u Calvinovom ciklusu, a 2-fosfoglikolat se hidrolizira u kloroplastu te nastaje glikolat (**Tablica 5.2., reakcija 2**). **Daljnji metabolizam glikolata uključuje uz kloroplast sudjelovanje još dviju organela, a to su peroksisom i mitohondrij** (**Slika 5.11.**). Glikolat izlazi iz kloroplasta i ulazi u peroksisom. U peroksisomu glikolat oksidira te nastaje H_2O_2 i glioksilat (**Tablica 5.2.**, reakcija 3). Vodikov peroksid (H_2O_2) u peroksisomu uz pomoć enzima katalaze razgrađuje se na vodu i kisik (**Tablica 5.2.**, reakcija 4), dok se glioksilat transaminacijom pretvara u aminokiselinu glicin (**Tablica 5.2.,** reakcija 5). Glicin izlazi iz peroksisoma i ulazi u mitohondrij (**Slika 5.11.**).

U mitohondriju enzimi glicin dekarboksilaza i serin hidroksimetil transferaza kataliziraju reakciju pretvorbe dviju molekula glicina u jednu molekulu serina uz redukciju NAD^+ u NADH te otpuštanje CO_2 i nastanak amonijeva iona (NH_4^+) (**Slika 5.11., Tablica 5.2.**, reakcije 6 i 7). Serin se ponovno iz mitohondrija prenosi u peroksisom (**Slika 5.11.**), gdje transaminacijom nastaje hidroksipiruvat (**Tablica 5.2.**, reakcija 8), a iz njega redukcijom nastaje glicerat (**Tablica 5.2.**, reakcija 9).

Glicerat se iz peroksisoma prenosi u kloroplast (**Slika 5.11.**), gdje se fosforilira te nastaje 3-fosfoglicerat (**Tablica 5.2.**, reakcija 10).

Bilanca ovih reakcija: 2 molekule 2-fosfoglikolata (4 C atoma) nastalih oksigenacijom ribuloza-1,5-difosfata izlaze iz kloroplasta, te se kroz niz reakcija konvertiraju u jednu molekulu 3-fosfoglicerata (3 C atoma) i jednu molekulu CO_2 (1 C atom). Drugim riječima, 75% ugljika koji se izgubi procesom oksigenacije ribuloza-1,5-difosfata regenerira se (obnovi) u C_2 fotosintetskom oksidativnom ciklusu te se vraća u Calvinov ciklus.

Ravnoteža između Calvinova ciklusa i C_2 fotosintetskog oksidativnog ciklusa regulira se na tri osnovna načina:

1. Kinetičkim svojstvima enzima RuBisCO
2. Temperaturom - visoke temperature potiču fotorespiraciju jer mijenjaju kinetička svojstva RuBisCO-a, odnosno povećavaju njegov afinitet prema O_2 i smanjuju koncentraciju CO_2 u listu
3. Odnosom koncentracija CO_2 i O_2 – manje koncentracije CO_2, a više O_2 potiču fotorespiraciju.

Fotorespiracija je proces ovisan o svjetlosnim reakcijama fotosinteze (**Slika 5.11.**). U svjetlosnim reakcijama fotosinteze nastaje ATP potreban za fosforilaciju glicerata (**Tablica 5.2.**; Reakcija 10).

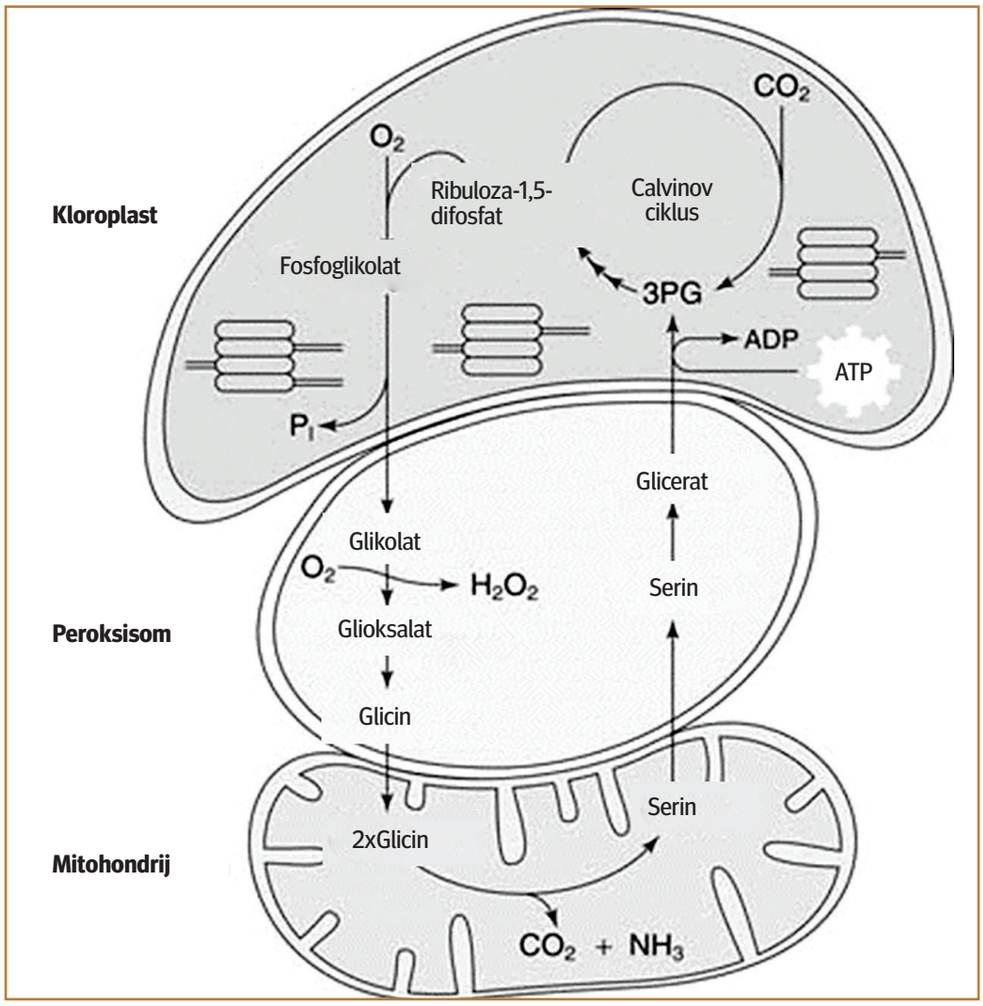
Reakcija		Enzim	Mjesto
1.	Ribuloza-1,5-difosfat + 2 O_2 → 2 2-fosfoglikolat + 2 3-fosfoglicerat	RuBisCO	Kloroplast
2.	2 2-fosfoglikolat + H_2O → 2 glikolat + 2 Pi	Fosfoglikolat fosfataza	Kloroplast
3.	2 glikolat + 2 O_2 → 2 glikosilat + 2 H_2O_2	Glikolat oksidaza	Peroksisom
4.	2 H_2O_2 → 2 H_2O + O_2	Katalaza	Peroksisom
5.	2 glioksilat + 2 glutamat → 2 glicin + 2 2-oksoglutarat	Glioksilat-glutamat aminotransferaza	Peroksisom
6.	Glicin + NAD^+ + glicin dekarboksilaza (GDC) → CO_2 + NH_4^+ + NADH + metilen-GDC	GDC	Mitohondrij
7.	Metilen-GDC + glicin + H_2O → serin + GDC	Serin hidroksimetil transferaza	Mitohondrij
8.	Serin + 2-oksoglutarat → hidroksipiruvat + glutamat	Serin aminotransferaza	Peroksisom
9.	Hidroksipiruvat + NADH + H^+ → glicerat + NAD^+	Hidroksipiruvat reduktaza	Peroksisom
10.	Glicerat + ATP → 3-fosfoglicerat + ADP	Glicerat kinaza	Kloroplast

Tablica 5.2. Reakcije procesa fotorespiracije

Biološka funkcija fotorespiracije

Iako C_2 fotosintetski oksidativni ciklus obnavlja 75% ugljika koji se izgubi iz Calvinova ciklusa, još nije riješen misterij postojanja procesa fotorespiracije.

Fotorespiracija predstavlja zaštitni, podupirući mehanizam u kloroplastu koji umanjuje oštećenja izazvana reaktivnim oblicima kisika koji nastaju pri jakom osvjetljenju i smanjenoj koncentraciji CO_2 u listu (stres suše, tj. nedostatak vode koji uzrokuje zatvaranje puči).



Slika 5.11. Osnovne reakcije fotorespiracijskog ciklusa i organele u kojima se odvijaju.

5.4. Mehanizmi koncentriranja CO_2

Mnogi fotosintetski organizmi ne provode proces fotorespiracije ili je provode u vrlo malom opsegu. Ti organizmi imaju enzim RuBisCO, a to što se kod njih ne provodi proces fotorespiracije posljedica je povećane koncentracije CO_2 u listovima (dijelovima u kojima se nalazi RuBisCO), što sprečava reakciju oksigenacije enzima RuBisCO.

U ovom ćemo poglavlju obraditi dva mehanizma kojima se ostvaruje spomenuto povećanje koncentracije CO_2:

1. C_4 fotosintetski put
2. CAM – Crasulacean Acid Metabolism.

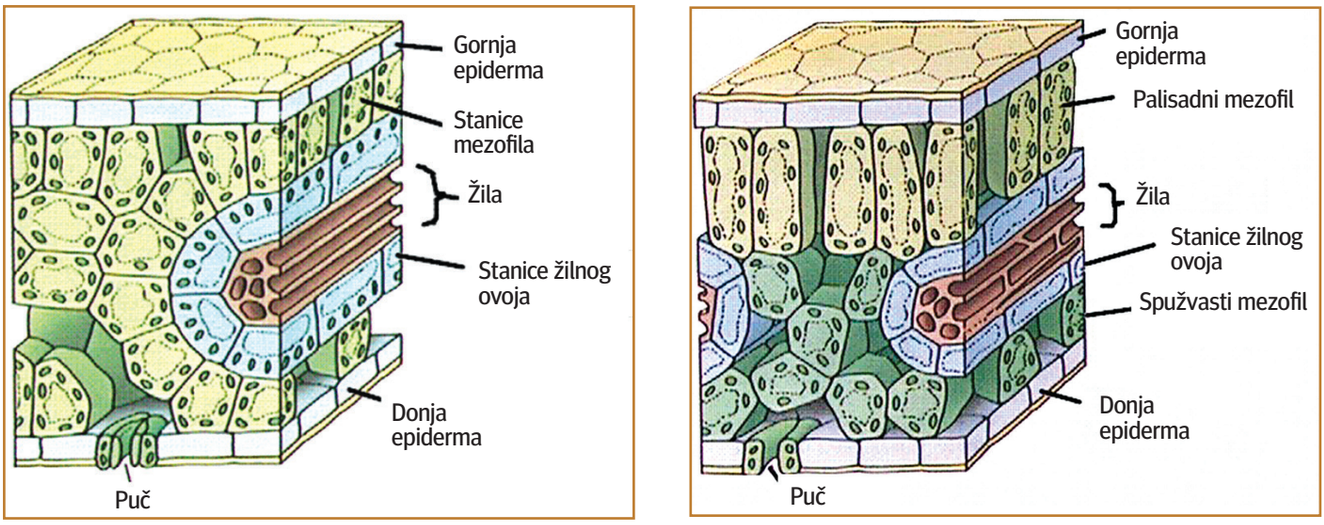
5.4.1. C_4 fotosintetski put

Biljke s C_4 fotosintetskim putem često se nalaze u vrućim i sušnim krajevima. U to se ubrajaju i neke vrlo važne poljoprivredne kulture, poput kukuruza, sirka, prosa i šećerne trske. Oksigenazna aktivnost RuBisCO-a ograničava efikasnost fotosinteze u uvjetima sušnih i vrućih klima. Kako bi spriječile oksigenaciju, tj. fotorespiraciju biljke s C_4 tipom fotosinteze, vrše predfiksaciju CO_2, odnosno posjeduju mehanizme kojima povećavaju koncentraciju CO_2 u tkivima u kojima se odvija fotosinteza (Calvinov ciklus).

C_4 tip fotosinteze naziva se tako zbog toga što su prvi stabilni spojevi fiksacije CO_2 molekule s četiri C atoma, najčešće organske kiseline **malat** i **aspartat** (za razliku od C_3 tipa fotosinteze gdje je prvi stabilni spoj 3-fosfoglicerat – molekula s tri C atoma). Predfiksaciju CO_2 kod biljaka s C_4 tipom fotosinteze vrši enzim PEP karboksilaza (fosfoenolpiruvat karboksilaza). Biljke s C_4 tipom fotosinteze imaju niz prilagodbi poznatih i pod nazivom kranz anatomija (od njem. *kranz* – vijenac):

1. U C_4 procesu fotosinteze sudjeluju dva tipa staničja (tkiva) – stanice mezofila lista i štapićaste stanice žilnog ovoja (**Slika 5.12.** i **5.13.**)
2. Posjeduju enzim PEP karboksilazu – u mezofilnim stanicama
3. Enzimi Calvinova ciklusa nalaze se u štapićastim stanicama žilnog ovoja
4. Posjeduju kloroplastni dimorfizam – različitu anatomsku građu kloroplasta u štapićastim stanicama žilnog ovoja i u mezofilnim stanicama. U stanicama žilnog ovoja kloroplasti su smješteni centrifugalno, sadrže velika škrobna zrnca i nenaborane tilakoidne membrane. U stanicama mezofila kloroplasti su raspršeni po čitavoj stanici, sadrže vrlo malo škroba i naborane tilakoide.

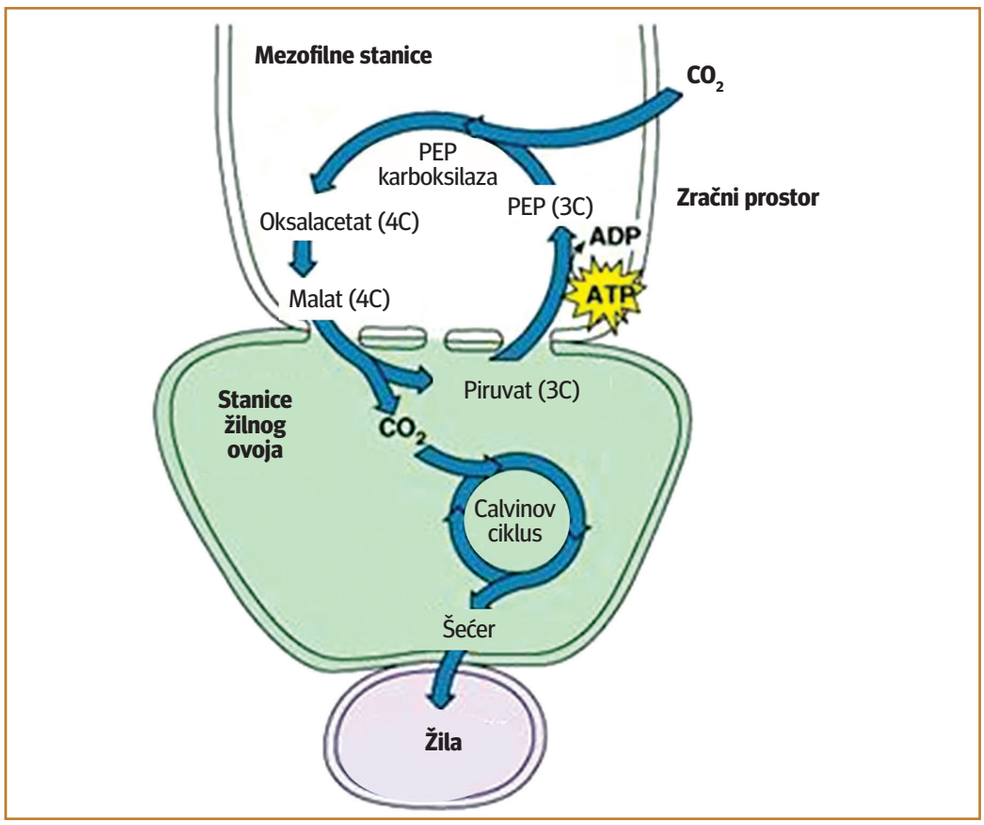
Takva organizacija (anatomske i morfološke prilagodbe) omogućuje preraspodjelu enzima između dva tipa staničja, što omogućuje provođenje C_4 tipa fotosinteze.



Slika 5.12. Razlika anatomske građe listova s C_3 (desno) i C_4 (lijevo) tipom fotosinteze (poprečni presjek listova)

Cijeli proces C_4 tipa fotosinteze može se opisati uz pomoć sljedeća četiri koraka (**Slika 5.13.**):

1. Fiksacija CO_2 u stanicama mezofila lista. PEP karboksilaza veže CO_2 na molekulu fosfoenolpiruvata te nastaje oksaloacetat. $NADP^+$-malat dehidrogenaza reducira oksaloacetat u malat (ili transaminacijom nastaje aspartat).
2. Transport C_4- molekule (aspartat ili malat) iz stanica mezofila u stanice žilnog ovoja.
3. Dekarboksilacija malata ili aspartata - oslobađanje CO_2 pri čemu nastaje piruvat. Oslobođeni CO_2 ulazi u Calvinov ciklus (fiksacija CO_2 i nastajanje trioza fosfata, jednako kao kod Calvinova ciklusa u C_3 tipu fotosinteze).
4. Piruvat (3 C) se vraća iz stanica žilnog ovoja u stanice mezofila lista te služi za obnovu fosfoenolpiruvata (troši se ATP), a fosfoenolpiruvat ponovno služi kao akceptor CO_2.



Slika 5.13. C_4 fotosintetski put.

Reakcija		Enzim
1.	Fosfoenolpiruvat (PEP) + HCO_3^- → oksalacetat + Pi	Fosfoenolpiruvat (PEP) karboksilaza
2.	Oksalacetat + NADPH + H^+ → malat + $NADP^+$	NADP-malat dehidrogenaza
3.	Oksalacetat + glutamat → aspartat + α-ketoglutarat	Aspartat aminotransferaza
4.	Malat + $NADP^+$ → piruvat + CO_2 + NADPH + H^+	$NADP^+$- malatni enzim
5.	Oksalacetat + ATP → fosfoenolpiruvat + CO_2 + ADP	Fosfoenolpiruvat karboksikinaza
6.	Piruvat + glutamat → alanin+ α-ketoglutarat	Alanin aminotransferaza
7.	AMP + ATP → 2 ADP	Adenilat kinaza
8.	Piruvat + Pi + ATP → fosfenolpiruvat + AMP + PPi	Piruvat-ortofosfat dikinaza
9.	PPi + H_2O → 2 P_i	Pirofosfataza

Tablica 5.3. Reakcije C_4 fotosintetskog puta

Pi – anorganski fosfat, PPi - pirofosfat

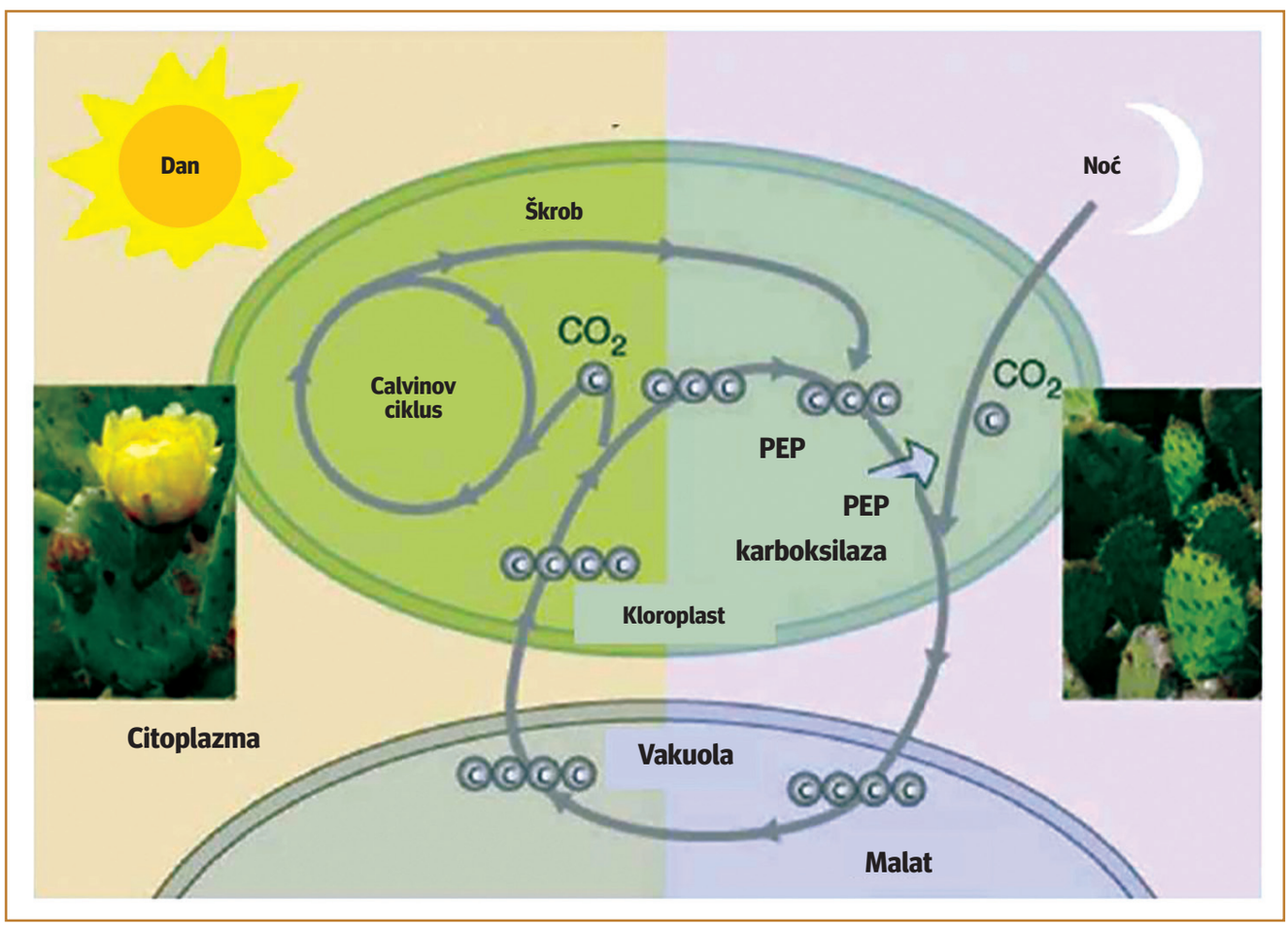
Ovakav proces omogućava povećanje koncentracije CO_2 u kloroplastima štapićastih stanica žilnog ovoja. Povećanje koncentracije CO_2 u štapićastim stanicama žilnog ovoja omogućuje da RuBisCO provodi samo karboksilaciju ribuloza-1,5-difosfata, odnosno sprečava oksigenaciju (fotorespiraciju).

C_4 fotosintetski put smanjuje fotorespiraciju i gubitak vode u vrućim i suhim klimatskim područjima. Dvije osnovne značajke C_4 fotosintetskog puta omogućuju biljkama preživljavanje visokih temperatura. Prvo, enzim PEP karboksilaza ima velik afinitet prema svom supstratu CO_2 (tj. HCO_3^- - CO_2 otopljen u citosolu) te je njegova aktivnost maksimalna pri atmosferskoj koncentraciji CO_2. Nadalje, kisik ne predstavlja konkurenciju ugljičnom dioksidu za vezivanje na PEP karboksilazu jer se ugljik veže u obliku HCO_3^- iona. To omogućuje biljkama s C_4 tipom fotosinteze da pri visokim temperaturama pritvore puči i štede vodu, a u isto vrijeme asimiliraju CO_2 istim ili višim intenzitetom kao C_3 biljke. I drugo, visoka koncentracija CO_2 u štapićastim stanicama žilnog ovoja sprečava vezivanje O_2 na RuBisCO, tj. sprečava fotorespiraciju i energetske gubitke tijekom C_2 ciklusa.

Biljke s C_4 tipom fotosinteze učinkovitije su u uvjetima visokih temperatura te nedostatka vode u odnosu na biljke s C_3 tipom fotosinteze, međutim C_4 tip fotosinteze energetski je zahtjevniji u odnosu na Calvinov ciklus kod C_3 biljaka. Naime, iz reakcija C_4 ciklusa prikazanih tablicom 5.3. vidljivo je da se za regeneraciju molekule fosfoenolpiruvata, kao primarnog akceptora CO_2 u C_4 tipu fotosinteze, troše 2 molekule ATP-a. Stoga C_4 biljke imaju veće energetske zahtjeve, odnosno trebaju više ATP-a. Izvor ATP-a potrebnih za ove reakcije (kao i za reakcije Calvinova ciklusa) predstavljaju svjetlosne reakcije, stoga biljke s C_4 tipom fotosinteze imaju veće kvantne zahtjeve za svjetlošću u odnosu na C_3 biljke.

5.4.2. CAM – Crassulacean Acid Metabolism

Mnoge biljne vrste koje žive u aridnim područjima, a među njih se ubrajaju i neke komercijalno važne vrste, poput ananasa, agave, kaktusa i nekih orhideja, također posjeduju mehanizme povećanja koncentracije CO_2. Taj se mehanizam naziva CAM – Crassulacean Acid Metabolism, prema biljnoj vrsti na kojoj su vršena prva istraživanja tog mehanizma (*Bryophyllum calycinum*), a koja pripada porodici Crassulaceae. CAM je zapravo povezan s nizom anatomskih prilagodbi koje na najmanju moguću mjeru smanjuju gubitke vode. Tako CAM biljke imaju debelu kutikulu, nadzemni organi imaju malu površinu u odnosu na volumen, stanice im posjeduju velike vakuole, a modificiran im je i mehanizam otvaranja i zatvaranja puči. Za svaki gram usvojenog CO_2 CAM biljke prosječno troše 50 - 100 g vode (u usporedbi s C_4 biljkama koje troše 250 - 400 g te C_3 biljkama koje troše 400 - 500 g vode). Stoga su CAM biljke mnogo efikasnije u sušnim uvjetima.



Slika 5.14. CAM fotosintetski put

Kod C_4 biljaka C_4 kiseline nastaju u stanicama (mezofilne stanice) koje su fizički odvojene od stanica u kojima se odvija Calvinov ciklus (štapićaste stanice žilnog ovoja). U CAM biljaka predfiksacija ugljičnog dioksida (ponovno u obliku C_4 kiselina) odvija se na različitim mjestima, ali i u različito vrijeme u odnosu na Calvinov ciklus (**Slika 5.14.**), a CO_2 se fiksira u obliku C_4 kiselina (malata) tijekom noći. Predfiksaciju CO_2 obavlja, kao i kod C_4 biljaka, enzim PEP karboksilaza. CO_2 vezan tijekom noći u obliku malata skladišti se u vakuoli. Tijekom dana malat izlazi iz vakuole i transportira se u kloroplast, gdje dolazi do dekarboksilacije (otpuštanja CO_2) slične onoj kod C_4 biljaka. Otpušteni CO_2 ulazi u Calvinov ciklus gdje ga veže RuBisCO.

Osnovna prilagodba CAM biljaka leži u činjenici da im se puči otvaraju noću, kako bi primile CO_2, a zatvaraju danju, kako bi se štedjela voda. Budući da biljke pri otvaranju puči primaju CO_2, a gube vodu, ove biljke tijekom vrućih dana zatvaraju puči i štede vodu, no zbog toga ne mogu primati CO_2.

Stoga otvaraju puči tijekom noći jer su tada temperature niže u odnosu na dnevne i tako primaju CO_2 koji vežu u obliku organskih kiselina (C_4) te ga otpuštaju tijekom dana kada se on koristi u Calvinovu ciklusu. Zbog te prilagodbe CAM biljke (kaktusi i dr.) vrlo efikasno koriste vodu.

Neke CAM biljne vrste pri dovoljnim količinama vode mogu provoditi C_3 tip fotosinteze.

5.5. Biosinteza saharoze i škroba

Krajnji produkti fotosintetske asimilacije CO_2 su saharoza i škrob. Gliceraldehid-3-fosfat kao primarni produkt Calvinova ciklusa služi u jednom od tri procesa:

1. regeneracija primarnog akceptora CO_2 u Calvinovom ciklusu (ribuloza-1,5-difosfat)
2. sinteza asimilacijskog škroba u kloroplastu
3. sinteza saharoze u citoplazmi.

Osnovni mehanizam koji određuje „sudbinu“ asimiliranog ugljika jest odnos koncentracija anorganskog fosfata (P_i) i trioza fosfata (gliceraldehid-3-fosfata) u pojedinim dijelovima stanice. Izlazak trioza fosfata iz kloroplasta u citosol regulira proteinski kompleks smješten na unutarnjoj membrani kloroplasta. Riječ je o proteinskom kompleksu zaduženom za izbacivanje trioza fosfata iz kloroplasta u citosol u zamjenu za ulazak anorganskog fosfata iz citosola u kloroplast (antiport). Tijekom sunčanih dana, pri intenzivnoj fotosintezi taj proteinski kompleks transportira asimilirani ugljik u obliku trioza fosfata iz kloroplasta u citosol, a u suprotnom smjeru, iz citosola u kloroplast transportira anorganski fosfat. Anorganski fosfat koji uđe u kloroplast služi za održavanje sinteze ATP-a (fotofosforilacije) i drugih fosforilacijskih procesa. Taj antiport regulira odnos koncentracija trioza fosfata i anorganskog fosfata u citosolu i stromi kloroplasta.

Pri intenzivnoj fotosintezi trioza fosfati se nakupljaju u stromi (ne izbacuju se dovoljno brzo u citosol) te služe za biosintezu škroba u stromi kloroplasta (to je tzv. asimilacijski škrob). Trioza fosfati koji izlaze iz kloroplasta služe za biosintezu saharoze u citosolu. Također, noću (u tami) dolazi do prekida asimilacije CO_2 te do razgradnje asimilacijskog škroba do maltoze i glukoze, koje izlaze iz kloroplasta i služe za biosintezu saharoze u citosolu. Saharoza je glavni transportirajući šećer u biljci, tj. šećer koji se transportira floemom, iz fotosintetski aktivnog lišća u fotosintetski neaktivne organe. U organima koji nisu fotosintetski aktivni saharoza, ali i drugi oligosaharidi koji se transportiraju floemom, služi za rast i razvoj te za skladištenje.

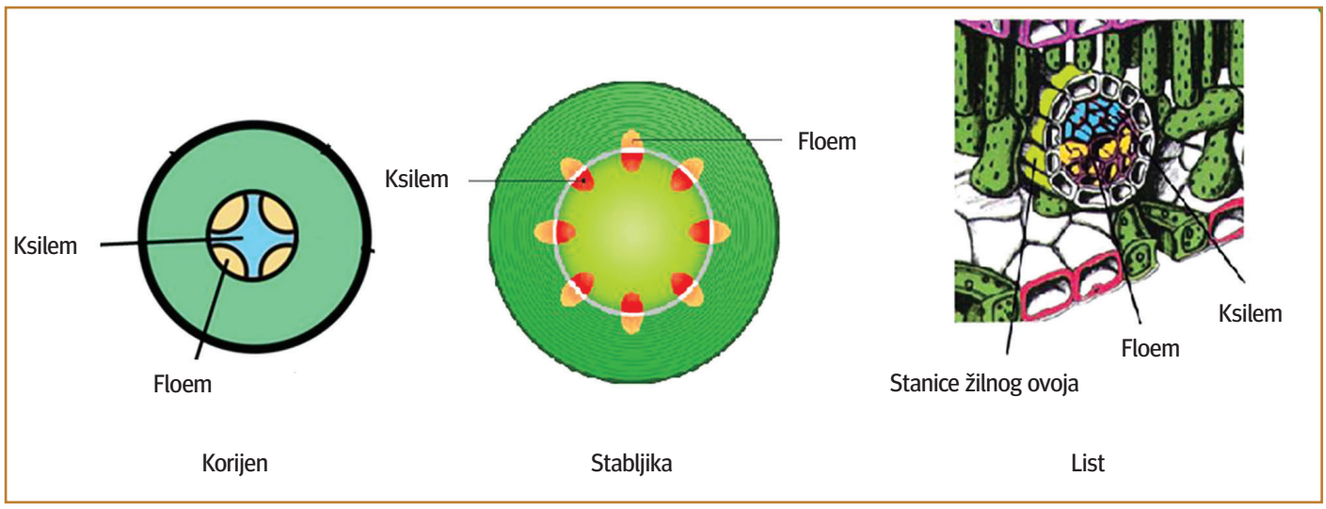
6. Floemski transport

Kao što smo vidjeli iz prethodnih poglavlja, korijenje biljaka zaduženo je za primanje vode i hranjiva, a lišće za primanje svjetlosne energije i sintezu organskih spojeva. Rastom biljke ovi organi postaju sve udaljeniji, stoga u biljci postoje žilna tkiva koja omogućuju povezivanje korijena i lista te efikasan transport tvari (vode i hranjiva te asimilata) između tih organa. Građu i funkciju ksilema, staničja zaduženog za transport vode, obradili smo u sklopu poglavlja 2., a u ovom ćemo poglavlju govoriti o **floemu**, staničju zaduženom za transport produkata od listova do mjesta intenzivnog rasta ili skladištenja organskih tvari. Uz to floem vrši i redistribuciju vode i mineralnih tvari u biljci.

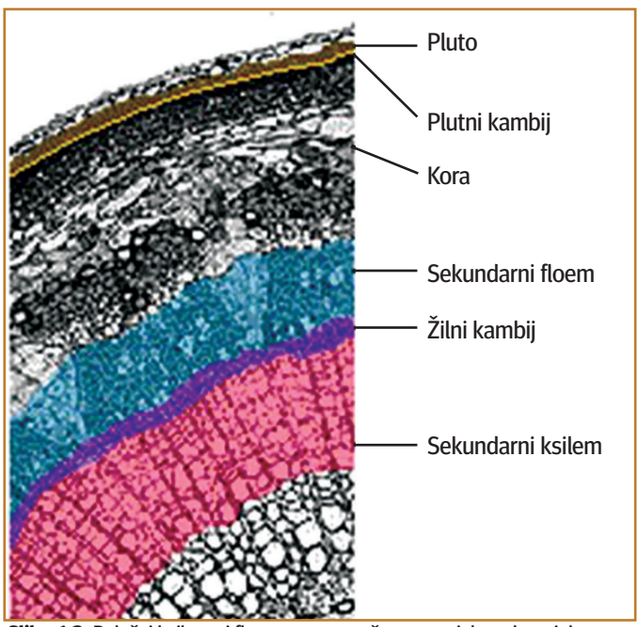
6.1. Građa floema

Floem i ksilem protežu se kroz čitavu biljku. Floem se najčešće nalazi s vanjske strane primarnog i sekundarnog žilnog tkiva (**Slike 6.1.** i **6.2.**). Kod biljka sa sekundarnim rastom, floem predstavlja unutarnji dio kore.

Stanice floema koje služe za prijenos šećera i drugih organskih spojeva nazivaju se **sitasti elementi**, a građeni su od **sitastih cijevi** i **stanica pratilica.** Uz sitaste elemente nalaze se stanice parenhima – tkiva koje nakuplja organske tvari i otpušta ih u floem. Uske žile lista i primarno žilno staničje mladih biljaka okruženo je **stanicama žilnog ovoja** (vidi **sliku 6.1.**). Njihovu ulogu spominjali smo kod biljaka s C_4 tipom fotosinteze (***vidi poglavlje 5.4.1.***).



Slika 6.1. Položaj ksilema i floema na poprečnom presjeku korijena, stabljike i lista zeljastih dikotiledonih vrsta.

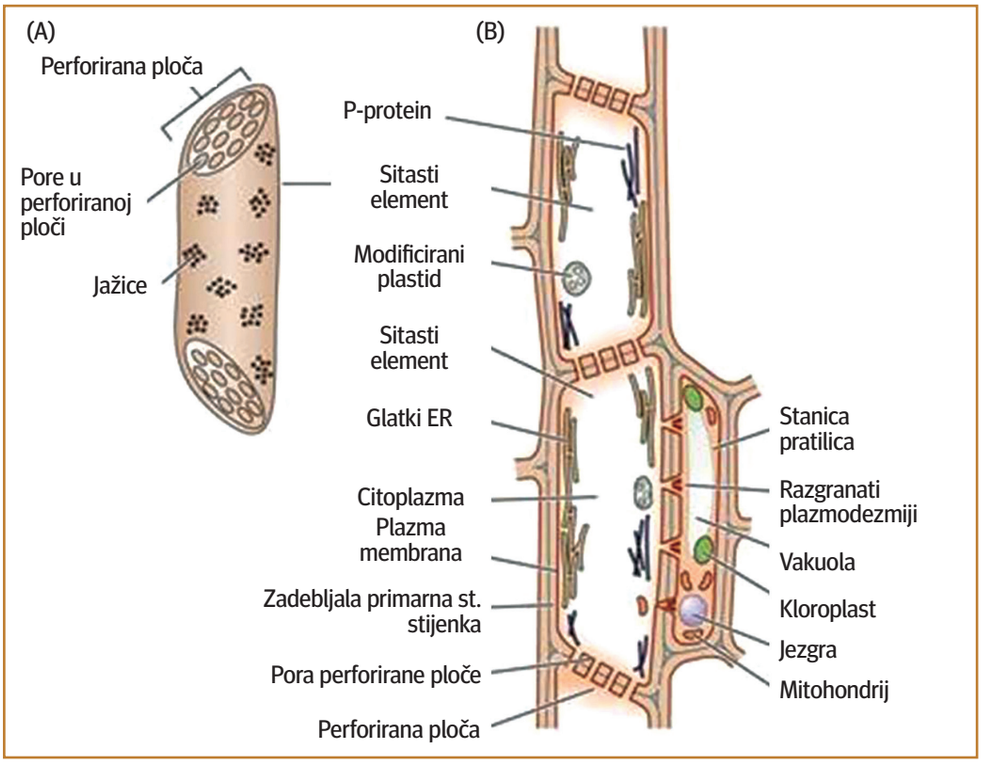


Slika 6.2. Položaj ksilema i floema na poprečnom presjeku odrvenjele stabljike

Za razumijevanje funkcioniranja floemskog transporta vrlo je važno poznavati građu sitastih elemenata, koja je vrlo specifična. U zrelim (diferenciranim) stanicama sitastih elemenata nedostaje velik broj organela koje su inače prisutne u živim stanicama, a koje se mogu naći i u mladim stanicama sitastih elemenata tijekom rane faze njihova nastanka. Tijekom svog razvoja (rasta i diferencijacije) stanice sitastih elemenata gube jezgru, tonoplast (membranu vakuole), mikrofilamente, mikrotubule, Golgijev aparat i ribosome. Zrele stanice sitastih elemenata sadrže modificirane mitohondrije, plastide i glatki endoplazmatski retikulum. Stanične stijenke su im nelignificirane. Dakle, građa sitastih elemenata znatno se razlikuje od građe ksilema, čije su stanice (traheje i traheide) mrtve, nemaju staničnu membranu, a imaju zadebljale, lignificirane stanične stijenke.

Sitasti elementi (pojedinačne stanice) imaju **sitaste ploče**, koje predstavljaju perforacije stanične stijenke na mjestu dodira dviju susjednih stanica (**slika 6.3.**), što ih čini povezanim strukturama koje nazivamo **sitaste cijevi**. Pore na sitastim pločama omogućavaju nesmetan transport tvari iz jedne stanice u drugu.

U sitastim elementima dvosupnica i pojedinih jednosupnica nalazi se specifičan protein, tzv. **P-protein,** koji ima ulogu začepljivanja sitastih ploča (perforacija) u slučaju ozljeđivanja floema. Poslije se na mjestu ozljede sintetizira kaloza – polisaharid koji se nakuplja između stanične membrane i stanične stijenke ozlijeđenog sitastog elementa i tako ga štiti. Uz sitaste cijevi nalaze se **stanice pratilice** (**Slika 6.3.**). One su sa sitastim cijevima povezane mnogim plazmodezmijama. Stanice pratilice imaju važnu ulogu u transportu asimilata iz mezofilnih stanica (stanica u kojima nastaju šećeri u procesu fotosinteze) do sitastih elemenata. Također, u njima se odvijaju neki važni metabolički procesi, kao što je sinteza proteina koji se ne mogu odvijati u sitastim elementima.



Slika 6.3. Građa sitastih elemenata

6.2. Model tlačne struje od „izvora do izljeva“

Izvorom se smatraju svi organi iz kojih se transportiraju asimilati. To su najčešće zreli, fotosintetski aktivni listovi koji proizvode više asimilata nego što ih troše za svoj metabolizam. Međutim, izvorom mogu postati i drugi organi, primjerice skladišni organi u vrijeme kada se hranjiva mobiliziraju iz njih. Primjerice sjeme pri klijanju ili korijen kod dvogodišnjih biljka, kada u drugoj vegetacijskoj sezoni dolazi do korištenja uskladištenih hranjiva za rast (u prvoj vegetacijskoj sezoni taj je korijen zapravo izljev).

Izljevom se smatraju svi nefotosintetski organi biljke te organi koji ne proizvode dovoljno asimilata za vlastite potrebe (npr. mladi listovi). Korijenje, gomolji, plodovi, sjeme i nezreli listovi smatraju se izljevom jer za svoj rast trebaju primiti ugljikohidrate iz organa izvora. Iako se cijeli koncept floemskog transporta može jednostavno opisati kao transport tvari od izvora do izljeva, proces je mnogo kompleksniji. Razlog tome je što svi organi koji se smatraju izvorom ne opskrbljuju sve organe koji se smatraju izljevom, nego postoje određena pravila opskrbe:

Blizina

Važan čimbenik odnosa izvor – izljev je blizina tih organa. Tako gornji listovi biljke najčešće asimilatima opskrbljuju vegetacijski vrh i mlado lišće koje još raste, dok donje lišće šalje asimilate u korijen.

Razvoj

Tijekom razvoja biljke mijenja se značaj i utjecaj pojedinih organa koji predstavljaju izljev. Korijen i vegetativni vrh predstavljaju glavna mjesta izljeva u vrijeme vegetativnog rasta, dok nakon cvatnje (generativna faza) glavno mjesto izljeva postaju plodovi i sjeme.

Razvijenost žilnog tkiva

Listovi koji predstavljaju izvor najčešće opskrbljuju organe izljeva s kojima su izravno povezani uz pomoć žilnog tkiva (floema). Npr. pojedini list najčešće je povezan žilama s listom koji se nalazi ispod i iznad njega (vertikalna povezanost).

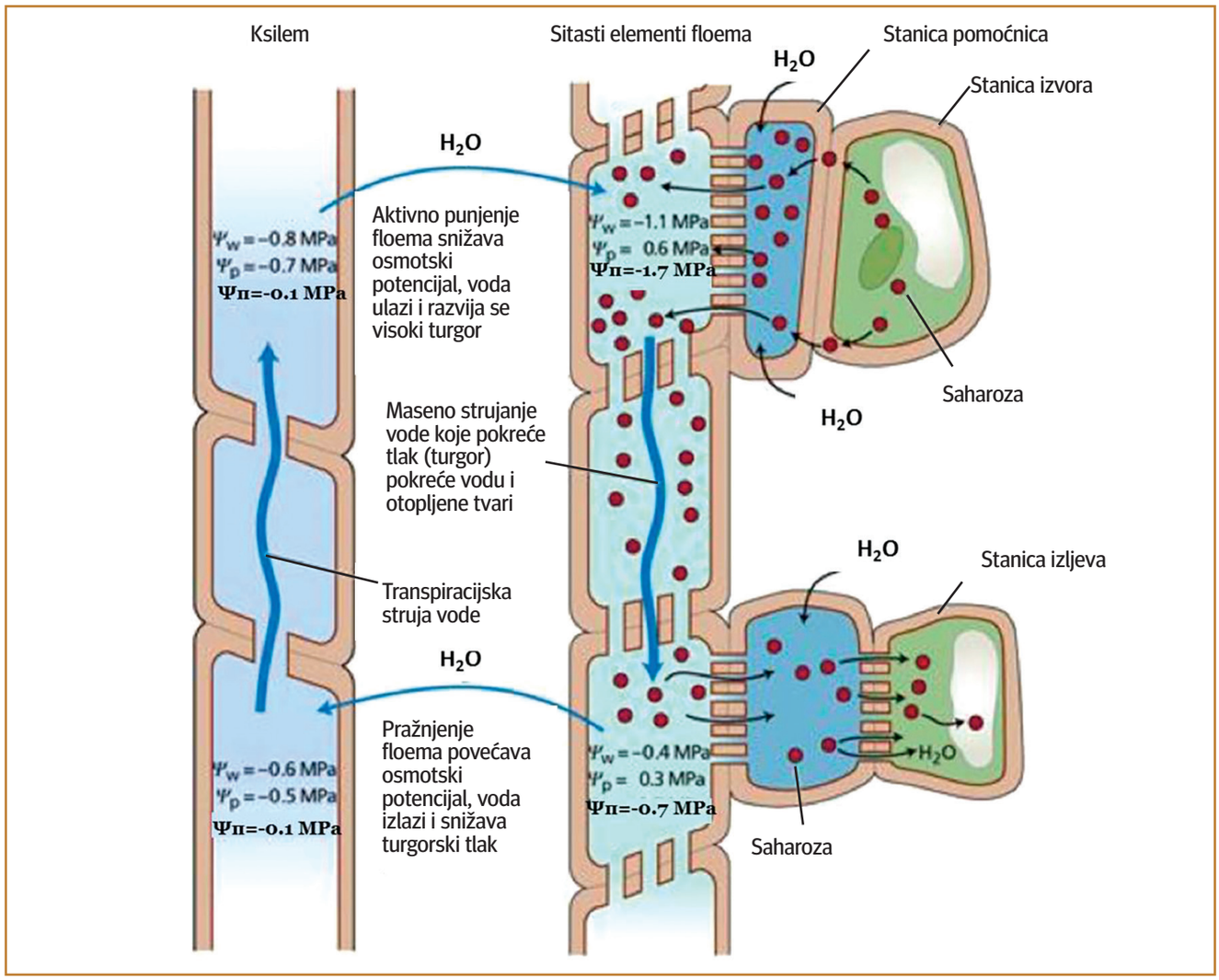
Modifikacije translokacijskih puteva

Zahvatima poput rezidbe (voćaka) može se utjecati na floemski transport jer se prekidaju i mijenjaju „pravila" floemskog transporta uspostavljena blizinom nekog organa ili povezanošću pojedinih organa. U slučaju da izvor i izljev nisu izravno povezani, javljaju se tzv. **anastomoze**. Primjerice, uklanjanjem donjeg lišća s biljke (donje lišće opskrbljuje korijen), ulogu ishrane korijena preuzima gornje lišće, i obrnuto. Mehanizam floemskog transporta objašnjava teorija tlačne struje od izvora do izljeva. Smjer floemskog transporta uvjetovan je mjestima sinteze asimilata (**izvorom**) i mjestima skladištenja ili potrošnje asimilata (**izljevom**) te nije isključivo usmjeren prema gore ili prema dolje.

Tvari se u floemu transportiraju masenim strujanjem (mass flow ili bulk flow). Maseno strujanje pokreće razlika u tlaku, kao što je objašnjeno u poglavlju 2. kada smo razmatrali koncept vodnog potencijala i masenog strujanja vode. Floemski transport (model tlačne struje) pasivan je proces, dakle odvija se bez utroška energije, iako će energija biti potrebna za transport asimilata iz stanica izvora u sitaste elemente (**punjenje floema**), kao i za njihov transport iz sitastih elemenata u stanice izljeva (**pražnjenje floema**).

Brzina floemskog transporta (prosječno 1 m h^{-1}) znatno je veća u odnosu na brzinu difuzije (***vidi poglavlje 2.1.1.***). Stoga je zaključeno da difuzija nije proces koji bi mogao objasniti floemski transport. Model tlačne struje objašnjava floemski transport stvaranjem **gradijenta** (hidrostatskog) **tlaka** između izvora i izljeva. Razlike u tlaku nastaju zbog punjenja floema na mjestu izvora i pražnjenja floema na mjestu izljeva. U organima izvora dolazi do aktivnog (uz utrošak energije) punjenja floema, zbog čega se u sitastim elementima nakupljaju šećeri te se razvija negativni osmotski potencijal (Ψ_{Π}), što uzrokuje nagli pad vodnog potencijala (Ψ_w). Formula vodnog potencijala je (***Poglavlje 2***) $\Psi_w = \Psi_{\Pi} + \Psi_p$; iz čega proizlazi: $\Psi_p = \Psi_w - \Psi_{\Pi}$. Zbog pada vodnog potencijala javlja se gradijent vodnog potencijala i voda iz ksilema ulazi u sitaste elemente, što izaziva porast turgora (Ψ_p) i kretanje otopine u sitastim cijevima. U tkivima izljeva dolazi do pražnjenja floema, što smanjuje koncentraciju šećera u sitastim elementima, a to dovodi do rasta osmotskog potencijala (Ψ_{Π}) i rasta vodnog potencijala (Ψ_w). Kako vodni potencijal floema postaje veći od vodnog potencijala ksilema, voda iz floema izlazi u ksilem, što smanjuje turgor u stanicama floema u organima izljeva. **Slikom 6.4** shematski je prikazan model tlačne struje.

Kada ne bi bilo poprečnih stijenki te kada bi čitav floem bila zapravo jedinstvena struktura (kao ksilem), razlike u tlaku na izvoru i izljevu brzo bi se izjednačile. Prisutnost



Slika 6.4. Model tlačne struje od izvora do izljeva

sitastih ploča povećava otpor kretanju vode te omogućuje stvaranje i održavanje gradijenta hidrostatskog tlaka između tkiva izvora i izljeva. Kretanje sadržaja sitastih elemenata ostvaruje se poput kretanja vode kroz vrtno crijevo za zalijevanje (maseno strujanje). Koncentracija otopljenih tvari na mjestu punjenja floema (izvoru) viša je (zbog čega je osmotski potencijal negativniji) od koncentracije otopljenih tvari na mjestu pražnjenja floema (izljev).

Dakle, pokretačka sila za kretanje otopine floemom je razlika u tlaku i otopina se kreće masenim strujanjem, pri čemu se otopljene tvari (šećeri) kreću istodobno i istom brzinom kao i voda koja ih nosi. Dakako, pasivni transport floemom na velike udaljenosti ovisi o aktivnom transportu šećera na kratke udaljenosti koji je potreban za punjenje i pražnjenje floema. Turgor koji se javlja u sitastim elementima iznosi od 0,12 do 0,46 MPa.

Preduvjeti za odvijanje floemskog transporta:

a) Perforacije u sitastim pločama moraju biti otvorene (prohodne). Ako ih začepi P-protein, otpor kretanju otopine postaje prevelik.
b) U jednom sitastom elementu postoji kretanje tvari samo u jednom smjeru. Mogu postojati kretanja u oba smjera, ali ne u istom sitastom elementu i ne u isto vrijeme.
c) Za unos tvari u floem (na „izvoru“) te pražnjenje floema (u „izljevu“) potrebna je energija (prijenos tvari preko membrana odvija se sekundarnim aktivnim transportom), ali transport sadržaja u sitastim cijevima je pasivan.
d) Mora postojati gradijent pozitivnog hidrostatskog tlaka. Turgor mora biti viši u sitastim elementima izvora u odnosu na sitaste elemente izljeva. Uz to, razlike u tlaku moraju biti dovoljne da prevladaju otpor koji pružaju floemske strukture (protoplast, sitaste ploče).

6.3. Tvari koje se transportiraju floemom

Sve tvari u biljci transportiraju se otopljene u vodi, stoga je voda najzastupljenija tvar u floemskom soku. Uz vodu, u floemskom soku prevladavaju ugljikohidrati, a od njih je najzastupljenija saharoza. U floemu se nalaze nereducirajući šećeri poput saharoze. Reducirajući šećeri (glukoza, fruktoza i sl.) sadrže jednu ili više aldehidnu ili keto skupinu, dok je kod nereducirajućih šećera aldehidna ili keto skupina reducirana do alkohola ili je vezana za drugu takvu skupinu nekog drugog šećera, što ih čini manje reaktivnim i stoga pogodnijim za transport floemom. Floemom se osim ugljikohidrata transportiraju, zapravo redistribuiraju mineralni elementi. Dušik se redistribuira u obliku organskih spojeva, uglavnom aminokiselina i amida (aspartat i glutamat, odnosno asparagin i glutamin). Ostale mineralne tvari pojavljuju se u obliku iona (K^+, Mg^{2+}, Cl^-, $H_2PO_4^-$). Mineralne tvari poput željeza, kalcija, sumpora, bakra itd. relativno su nepokretne u floemu. Floemski transport iznimno je važan za transport biljnih hormona (auksina, giberelina, citokinina i apscizinske kiseline). Tablica 6.1. prikazuje sastav floemskog soka ricinusa (*Ricinus communis*).

6.4. Punjenje floema

Nakon biosinteze asimilata u kloroplastima mezofila lista dolazi do njihova transporta do floema, koji uključuje nekoliko koraka:

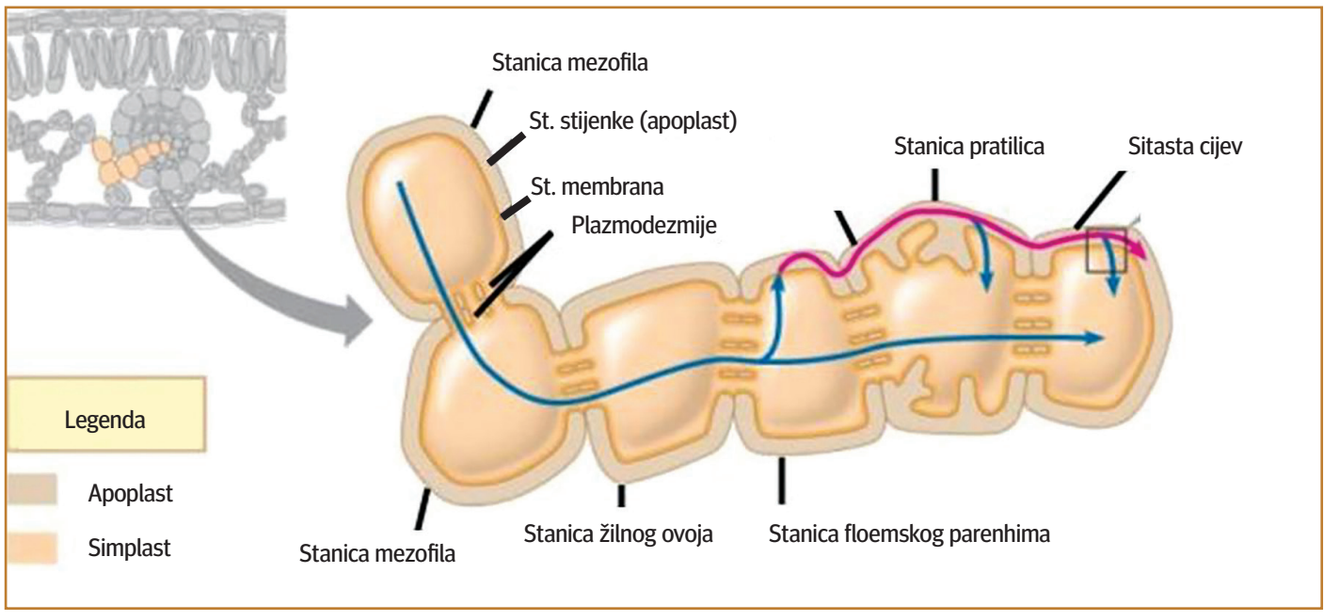
1. Trioza fosfati koji nastaju fotosintezom tijekom dana se transportiraju iz kloroplasta u citosol, gdje se koriste za sintezu saharoze.
2. Saharoza se transportira iz mezofilnih stanica u kojima je nastala prema stanicama žilnog ovoja (taj proces obuhvaća samo nekoliko stanica; transport na kratke udaljenosti).
3. U procesu punjenja floema šećeri se transportiraju u sitaste elemente i stanice pratilice, gdje dolazi do povećanja njihove koncentracije (koncentracija im je veća u odnosu na koncentraciju u mezofilnim stanicama). Nakon toga se saharoza i drugi spojevi transportiraju prema izljevu (transport na velike udaljenosti).

Punjenje floema na izvoru te njegovo pražnjenje osnova su stvaranja gradijenta tlaka u floemu, odnosno samog floemskog transporta. **Punjenje floema može se odvijati kroz apoplast ili simplast.** Transport asimilata iz mezofila lista do stanica žilnog ovoja koristi simplastni put (kroz plazmodezmije), a zatim se asimilati mogu transportirati u sitaste elemente kroz simplast (putem plazmodezmija) ili mogu izići u apoplast i zatim ući u sitaste elemente (**Slika 6.5.**). Ako asimilati izađu u **apoplast**, tada se **aktivno** (uz utrošak energije) ubacuju u stanice pratilice i sitaste elemente. Kod različitih biljnih vrsta utvrđeni su različiti putovi punjenja floema. Apoplastno punjenje floema uključuje proteinski nosač u plazmalemi stanica pratilica i sitastih elemenata, tzv. **saharoza-H^+ simporter** (simport je sekundarni aktivni transport koji koristi energiju nastalu primarnim aktivnim transportom,

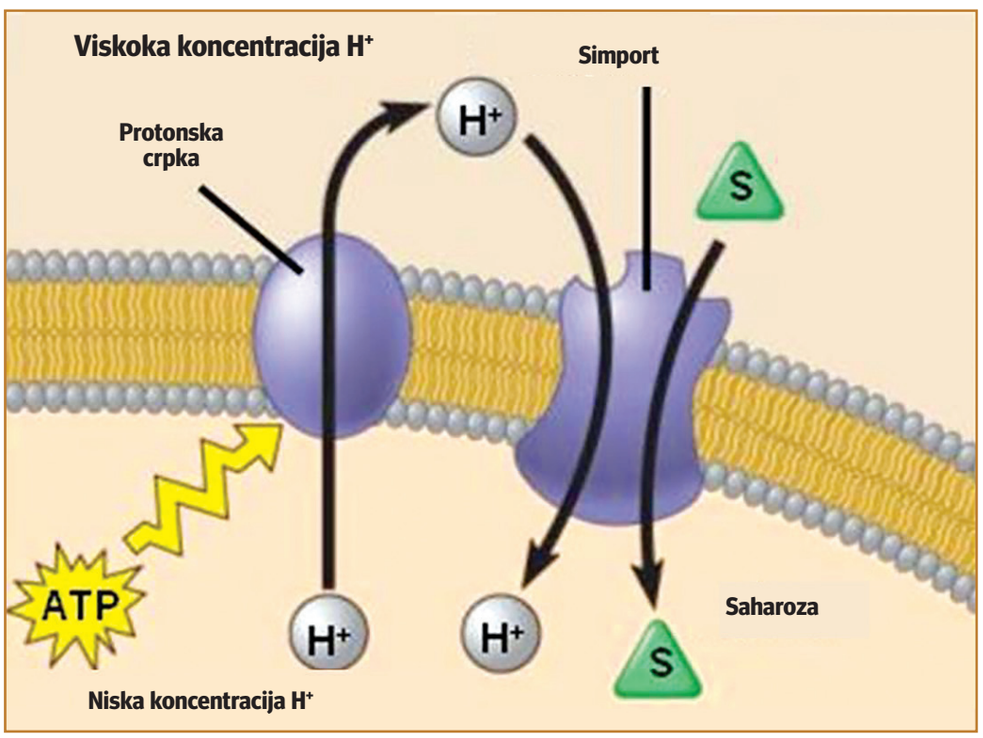
Tvar	Koncentracija (mg ml^{-1})
Ugljikohidrati	80 – 106
Aminokiseline	5,2
Organske kiseline	2,0 – 3,2
Proteini	1,45 – 2,2
Kalij	2,3 – 4,4
Klor	0,355 – 0,675
Fosfati	0,35 – 0,550
Magnezij	0,109 – 0,122

Tablica 6.1. Sastav floemskog soka ricinusa (*Ricinus communis*)

tj. protonski gradijent uspostavljen radom H^+-ATPaze). Energija povratka protona iz apoplasta u stanicu koristi se za ulazak saharoze u stanice (**Slika 6.6.**). Kod nekih biljnih vrsta utvrđen je isključivo simplastni transport asimilata u floem (npr. lubenica i tikva). Kod tih vrsta uz saharozu u floemu češće nalazimo i druge šećere (stahioza, rafinoza i sl.). Simplastni transport zahtijeva prisutnost mnogih plazmodezmija koje povezuju stanice mezofila sa sitastim elementima i stanicama pratilicama. Kod ovog načina punjenja floema šećeri se difuzijom kroz plazmodezmije prebacuju iz mezofilnih stanica u stanice žilnog ovoja, a iz njih u sitaste elemente i stanice pratilice. Pritom difuzija ide suprotno koncentracijskom gradijentu (iz stanica mezofila gdje je niža koncentracija šećera u sitaste elemente i stanice pratilice gdje je ta koncentracija viša). Taj naizgled nemogući proces objašnjen je teorijom **oligomerizacije saharoze**. Naime, saharoza se iz stanica mezofila prebacuje u stanice pratilice kroz brojne plazmodezmije. U stanicama pratilicama dolazi do reakcije saharoze i galaktoze te nastaju rafinoza i stahioza (oligomeri koji se sastoje od 3, odnosno 4 heksoze). Zbog anatomije stanica te veličine molekula stahioze i rafinoze ove molekule ne mogu ponovno difundirati u stanice žilnog ovoja, nego prelaze u sitaste elemente. Tako saharoza nastala u mezofilu i dalje može difundirati prema stanicama pratilicama, tj. u njih jer se njenom oligomerizacijom zapravo smanjuje njena koncentracija i razvija se koncentracijski gradijent.



Slika 6.5. Punjenje floema na izvoru



Slika 6.6. Rad saharoza-H^+ simportera

6.5. Pražnjenje floema

U organima izljeva (korijenje, gomolji, plodovi i sl.) dolazi do pražnjenja floema. U mnogo primjera ovaj je proces obrnut od procesa punjenja floema. Sljedeći su koraci uključeni u proces pražnjenja floema:

1. Pražnjenje floema. To je proces u kojem asimilati izlaze iz sitastih elemenata u tkiva izljeva.
2. Transport na kratke udaljenosti. Nakon izlaska iz floema asimilati se transportiraju u stanice izljeva.
3. Skladištenje i metabolizam. Kao krajnji korak, asimilati se skladište ili metaboliziraju u stanicama izljeva.

Ponovno, pražnjenje floema te transport na kratke udaljenosti može ići apoplastom ili simplastom (**Slika 6.7.**). Organi izljeva mogu se međusobno znatno razlikovati. To mogu biti vegetacijski vrhovi korijena ili izboja, gomolji, sjeme itd.

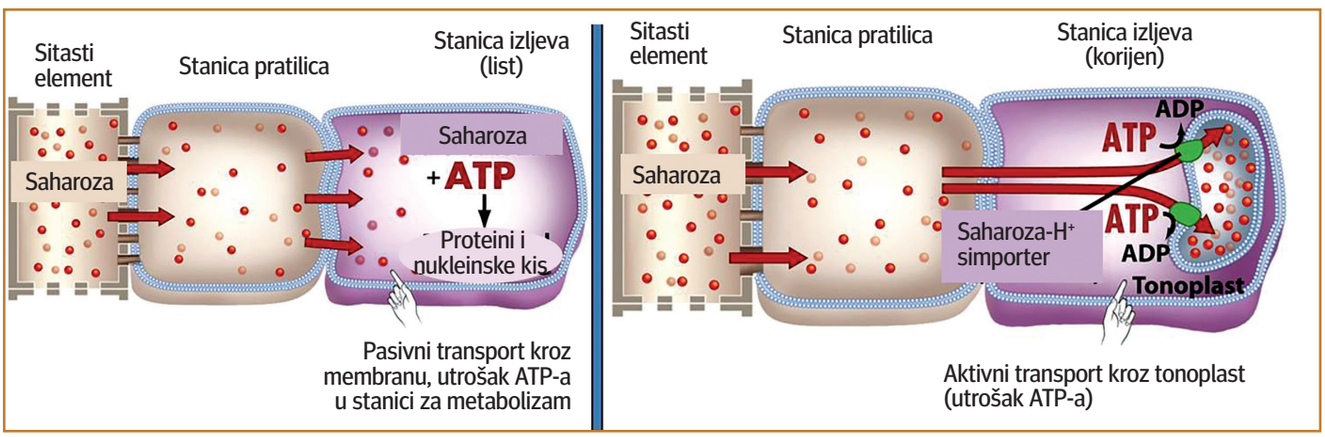
Zbog toga što se organi izljeva toliko razlikuju u svojoj strukturi i funkciji, ne postoji jedinstven mehanizam pražnjenja floema. Kao i kod punjenja floema, u pražnjenju se šećeri mogu transportirati simplastom (kroz plazmodezmije), ili u nekom trenutku mogu izići iz stanica u apoplast. Simplastni put čest je kod organa u kojima su stanice međusobno dobro povezane plazmodezmijama (korijenov vrh, mlado lišće i sl.), dok apoplastni put prevladava pri pražnjenju floema u sjemenu jer nema dovoljno razvijenih plazmodezmija.

Takav način transporta (apoplastni) omogućuje kontrolu ulaska tvari u embrij (jer tvari moraju proći dvije plazmamembrane).

Ulazak asimilata u stanice izljeva aktivan je proces (zahtijeva energiju). Rastući listovi, korijenje i skladišni organi, u kojima se organske tvari skladište u obliku škroba ili proteina, koriste simplastni put pražnjenja floema i transporta tvari na kratke udaljenosti. Transportni šećeri (saharoza) koriste se kao supstrat za disanje ili se metaboliziraju u skladišne polimere i tvari potrebne za rast. Metabolizam saharoze smanjuje koncentraciju saharoze u organima izljeva, što održava koncentracijski gradijent potreban za floemski transport. Simplastni transport podrazumijeva prolazak šećera kroz plazmodezmije (dakle ne poprijeko membrana), što je pasivni transport (bez utroška energije) iz područja veće koncentracije u sitastim elementima prema manjoj koncentraciji u stanicama izljeva. Metabolička energija zapravo je potrebna u stanicama izljeva za procese disanja i biosinteze.

Kod apoplastnog pražnjenja floema šećeri prolaze plazmamembrane (barem dvije– plazmamembranu stanice iz koje izlaze i plazmamembranu stanice u koju ulaze), a kad ulaze u vakuolu stanice izljeva, tada prolaze i kroz tonoplast.

Takav transport zahtijeva energiju.



Slika 6.7. Pražnjenje floema na izljevu (lijevo simplastni put, desno apoplastni put)

6.6. Prijelaz iz izljeva u izvor

Listovi dikotiledona poput rajčice ili graha započinju svoj razvoj kao izljev, a zatim se postupno pretvaraju u izvor. Taj proces započinje kada dostignu oko 25%, a završava kada dostignu 40-50% svoje konačne veličine. Pretvorba izljeva u izvor započinje na vrhu lista i napreduje prema njegovoj bazi, dok čitav list ne postane izvor.

Tijekom tog razdoblja vrh transportira šećere iz lista, a baza prima šećere od drugih listova. Proces importa šećera u list ili eksporta iz njega neovisni su jedan o drugom. Albino listovi duhana ne sadrže pigmente te stoga ne mogu vršiti fotosintezu i ne mogu biti mjesta izvora. Međutim, kod ovakvih listova import šećera prestaje u isto vrijeme kao i kod normalnih zelenih listova, što upućuje na to da se uz početak eksporta u listu moraju odvijati još neke promjene kako bi on postao izvor.

Te se promjene odnose na anatomske promjene, uglavnom na zatvaranje i smanjenje broja plazmodezmija u floemskim elementima koji su dovodili asimilate u takav list.

7. Disanje

Biljke fotosintezom stvaraju organske spojeve koji služe za rast organizma. Disanje ili respiracija predstavlja kontroliran proces oslobađanja energije uskladištene u organskim spojevima. Istodobno, disanjem nastaje veliki broj spojeva koji služe kao prekursori u biosintezi različitih organskih spojeva. Stoga disanje predstavlja centralni metabolički proces kojim se oslobađa energija potrebna za rast i razvoj biljke, ali i mnogi spojevi koji će se koristiti u ostalim metaboličkim procesima.

Aerobna respiracija biološki je proces u kojem dolazi do kontrolirane oksidacije reduciranih organskih spojeva, pri čemu se postupno oslobađa energija. Energija oslobođena u procesu disanja privremeno se skladišti u obliku ATP-a, molekule koja se koristi u metabolizmu biljke te za rast i razvoj biljnog organizma.

Kao supstrat za respiraciju najčešće se navodi glukoza. Međutim, u biljnim stanicama kao supstrat disanja mogu poslužiti različiti organski spojevi, saharoza, trioza i heksoza fosfati nastali fotosintezom ili razgradnjom škroba, različiti drugi šećeri, kao i lipidi i organske kiseline, a u pojedinim slučajevima i proteini.

Reakcija disanja koja se opisuje jednadžbom: predstavlja obrnutu reakciju od reakcije fotosinteze jer u tom procesu dolazi do potpune oksidacije saharoze do ugljičnog dioksida (CO_2), pri čemu kisik (O_2) služi kao krajnji akceptor elektrona te se reducira do vode (H_2O).

Količina energije koja se oslobodi po molu saharoze (342 g) iznosi 5760 kJ (1380 kcal). Primarna funkcija staničnog disanja jest kontroliranje oslobađanja tako velike količine energije te njeno pretvaranje u spojeve (ATP) koje će stanica moći koristiti u daljnjim metaboličkim reakcijama.

Kako bi spriječila oštećenje uzrokovano naglim oslobađanjem energije, proces staničnog disanja predstavlja niz pojedinačnih (korak po korak) reakcija u kojima dolazi do postupne oksidacije organske tvari te do postupnog oslobađanja energije. Te se reakcije mogu svesti na četiri velika procesa: **glikoliza, ciklus limunske kiseline (Krebsov ciklus), put pentoza fosfata i oksidativna fosforilacija.**

Glikoliza obuhvaća niz anaerobnih reakcija koje se odvijaju u citosolu (i plastidima) u kojima saharoza djelomično oksidira do organske kiseline (točnije **piruvata**). Glikolizom nastaje mala količina energije u obliku ATP-a (fosforilacijom na razini supstrata) te reducirajući koenzim NADH.

Put pentoza fosfata odvija se u citosolu i plastidima. U ovom procesu glukoza-6-fosfat (heksoza) oksidira do ribuloza-5-fosfata (pentoza). Ugljik se oslobađa u obliku CO_2, a nastaju dva reducirana koenzima NADPH. U reakcijama koje slijede ribuloza-5-fosfat konvertira se u ugljikohidrate s tri do sedam C atoma.

Ciklus limunske kiseline odvija se u matriksu mitohondrija (osim reakcije koju katalizira enzim sukcinat dehidrogenaza – taj se enzim nalazi na unutarnjoj membrani mitohondrija). U ovom procesu piruvat nastao glikolizom potpuno oksidira do CO_2, pri čemu nastaje velika količina reducirajućih koenzima NADH (16) i $FADH_2$ (4).

Oksidativna fosforilacija proces je u kojem se elektroni s reduciranih koenzima (NADH i $FADH_2$) prenose preko sustava proteinskih nosača smještenih na unutarnjoj membrani mitohondrija (dišni lanac ili transportni sustav elektrona) do kisika te ga reduciraju do vode. Prijenos elektrona od reduciranog koenzima do kisika generira veliku količinu energije koja služi za sintezu ATP-a (ADP + Pi).

7.1. Glikoliza

Glikoliza je proces koji se odvija u **citosolu**. U prvim koracima glikolize ugljikohidrati se konvertiraju u heksoza fosfate, koji se zatim cijepaju na dvije molekule trioza fosfata. Zatim slijedi faza konzervacije energije u kojoj trioze fosfati oksidiraju i izomeriziraju se, nakon čega nastaju dvije molekule piruvata. Osim piruvata koji zatim služi kao supstrat za ciklus limunske kiseline, glikolizom nastaje kemijska energija u obliku ATP-a i NADH. U anaerobnim uvjetima (npr. u korijenu koji se nalazi u tlu zasićenom vodom – sve mikro i makropore ispunjene su vodom) glikoliza može biti jedini proces kojim se u stanici oslobađa energija. U tim uvjetima piruvat ulazi u procese fermentacija, o čemu će biti riječ poglavlju 7.2.

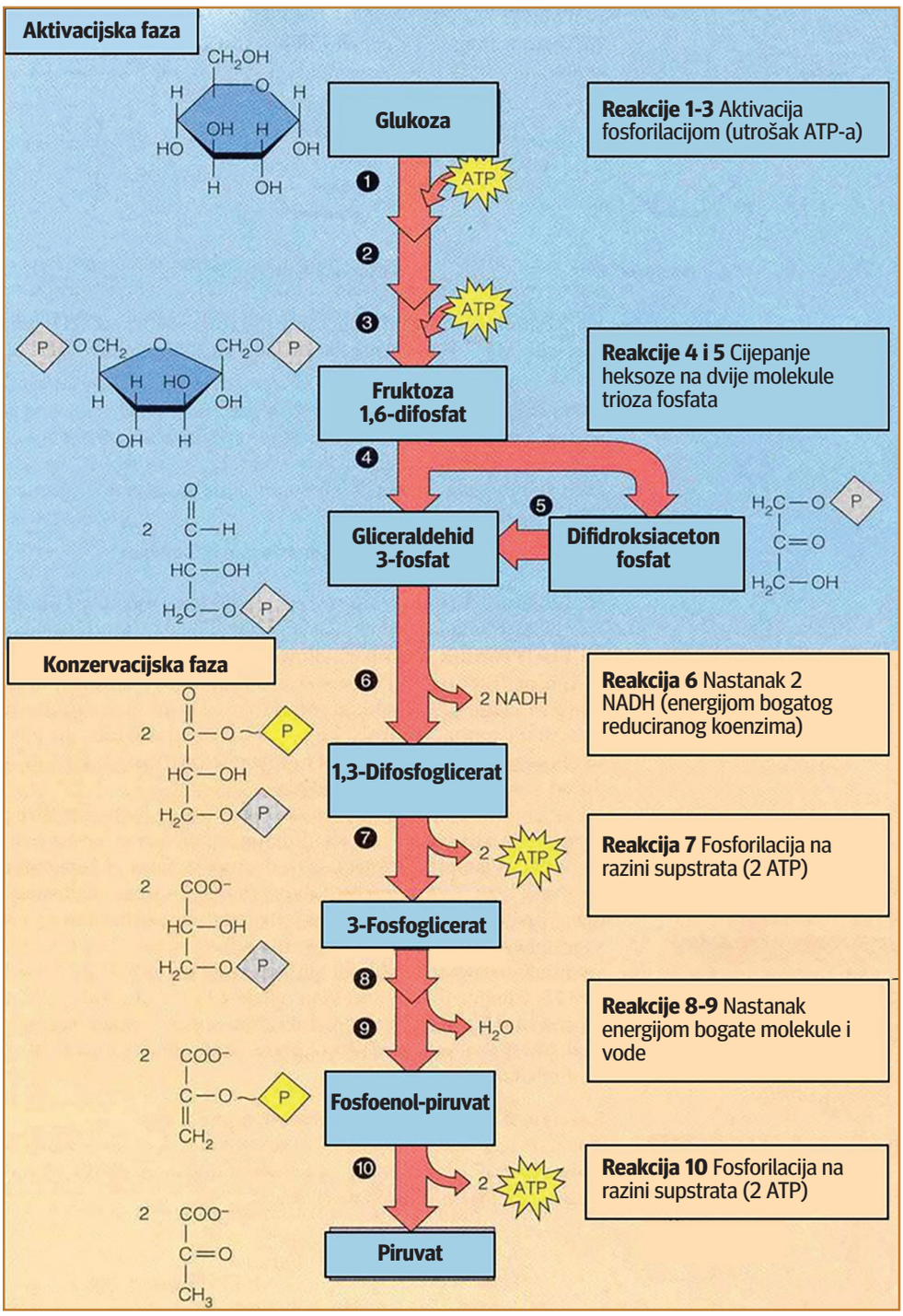
Glikoliza je proces koji se odvija u svim živim stanicama. Glikoliza u biljnim stanicama vrlo je slična onoj u životinjskim stanicama, međutim, kod biljnih stanica glikoliza ima neke specifičnosti. Primjerice, neki dijelovi glikolize kod biljaka mogu se odvijati u plastidima. Osim toga, glavni transportirajući šećer kod biljaka je saharoza, stoga je saharoza glavni supstrat disanja kod biljaka (kod životinja je to glukoza), a krajnji produkt glikolize kod biljaka može biti malat (prevladava piruvat). Stoga se u koracima koji prethode glikolizi saharoza razgrađuje na glukozu i fruktozu koje zatim ulaze u daljnji proces glikolize. Postoje dva poznata načina razgradnje saharoze u biljkama. Oba su procesa uključena u procese pražnjenja floema. Kod većine biljaka enzim **saharoza sintaza,** koji je smješten u **citosolu,** razgrađuje saharozu, pri čemu nastaje **fruktoza** i **UDP-glukoza.** Enzim UDP-glukoza pirofosforilaza konvertira UDP-glukozu i pirofosfat (PPi) u glukozu-1-fosfat. Drugi proces razgradnje saharoze katalizira enzim **invertaza** koji se nalazi u **staničnoj stijenci**, **vakuoli** ili **citosolu,** a hidrolizira saharozu na glukozu i fruktozu.

U plastidima se odvijaju dijelovi glikolize koji produciraju metabolite za procese biosinteze, ali mogu i rezultirati supstratima koji se uključuju u glikolitički proces u citoplazmi. Škrob je polisaharid koji se sintetizira i razgrađuje jedino u plastidima, a šećer koji nastaje razgradnjom škroba u plastidima uglavnom je glukoza. Stoga **glukoza** nastala razgradnjom škroba u **plastidima** izlazi u citoplazmu gdje ulazi u proces glikolize. Osim saharoze

te glukoze nastale razgradnjom škroba, kao supstrat za glikolizu mogu poslužiti i **trioza fosfati** koji nastaju kao primarni produkti fotosinteze.

Stoga glikoliza predstavlja „lijevak" u čijoj se inicijalnoj fazi uključuju ugljikohidrati iz različitih metaboličkih procesa u stanici. U prvoj fazi glikolize (**slika 7.1.**) dolazi do dvostruke fosforilacije heksoze koju kataliziraju enzimi heksokinaza i fosfofruktokinaza, a zatim se nastale fosforilirane heksoze cijepaju na dvije molekule trioze fosfata (dihidroksiaceton fosfat i gliceraldehid-3-fosfat).

Nakon nastanka **gliceraldehid-3-fosfata** slijedi konzervacijska faza glikolize u kojoj dolazi do izdvajanja energije. Enzim **gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza** katalizira oksidaciju aldehida do karboksilne kiseline, pri čemu se reducira NAD^+ u NADH. Ta reakcija oslobađa dovoljnu količinu energije koja se koristi za fosforilaciju gliceraldehid-3-fosfata, pri čemu nastaje 1,3-difosfoglicerat. Fosfat na 1 C atomu molekule 1,3-difosfoglicerata ima dovoljno slobodne energije za hidrolizu te 1,3-difosfoglicerat predstavlja odličan donor fosfatne skupine, što se koristi za **fosforilaciju na razini supstrata** (zato što se fosfat prenosi izravno sa supstrata na ADP, pri čemu nastaje ATP). Ovu reakciju katalizira fosfoglicerat kinaza, a od 1,3-difosfoglicerata nastaju ATP i 3-fosfoglicerat.



Slika 7.1. Reakcije glikolize.

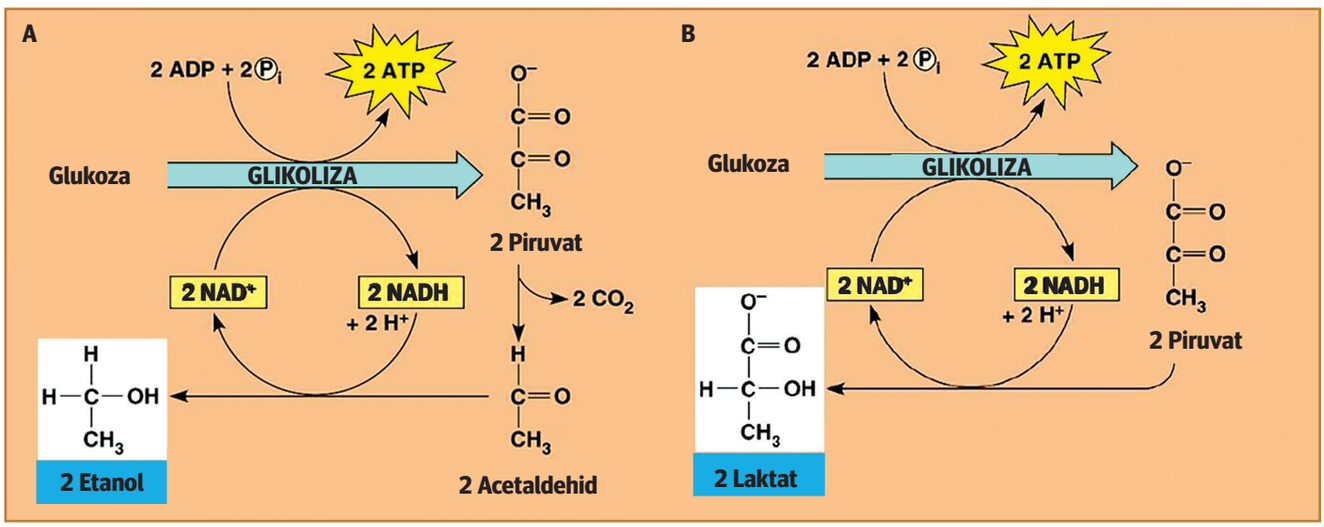
Nakon toga slijedi reakcija premještanja fosfatne skupine s trećeg C atoma na drugi C atom i uklanjanja vode iz molekule te nastaje molekula fosfoenolpiruvat (PEP). Fosfatna skupina u molekuli PEP ima visoku slobodnu energiju za hidrolizu te ponovno služi za fosforilaciju na razini supstrata. Enzim piruvat kinaza katalizira tu reakciju, nakon čega nastaju ATP i **piruvat**. Od jedne molekule saharoze koja je ušla u proces glikolize nastaju dvije molekule heksoze te četiri molekule trioza fosfata, stoga od jedne molekule saharoze nastaju četiri molekule ATP-a i četiri molekule piruvata.

Na kraju glikolize biljke imaju alternativne metaboličke puteve piruvata. Jedan metabolički put je karboksilacija piruvata uz pomoć **fosfoenolpiruvat karboksilaze (PEP karboksilaze),** vrlo čestog enzima u citosolu biljaka, pri čemu nastaje **oksaloacetat**. Enzim malat dehidrogenaza zatim reducira oksaloacetat do **malata**, pri čemu oksidira NADH (nastaje NAD^+). Malat se može skladištiti u vakuoli ili se transportira u mitohondrij, gdje ulazi u ciklus limunske kiseline. Stoga, kao krajnji produkt glikolize kod biljaka te supstrat za ciklus limunske kiseline mogu nastati piruvat ili malat (piruvat prevladava u većini tkiva).

7.2. Vrenja

U nedostatku kisika onemogućeno je protjecanje ciklusa limunske kiseline i transportnog sustava elektrona (oksidativne fosforilacije). Glikoliza koja producira NADH troši zalihe NAD^+ u citosolu. Budući da se ciklus limunske kiseline i oksidativna fosforilacija ne odvijaju, nema trošenja NADH i obnavljanja zaliha NAD^+ te prestaje i glikoliza (točnije, aktivnost gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaze). Da bi zaobišle ovaj problem, biljke i neki drugi organizmi (kvasci, bakterije mliječnog kiselog vrenja) metaboliziraju piruvat u procesima poznatim pod nazivom **fermentacije** ili **vrenja**.

U alkoholnoj fermentaciji (čestoj kod biljka i kvasaca) enzimi piruvat dekarboksilaza i alkohol dehidrogenaza razgrađuju piruvat do etanola i CO_2, a pri tom oksidiraju NADH i stvaraju NAD^+ koji omogućava funkcioniranje glikolize (**Slika 7.2.**).



Slika 7.2. Alkoholno vrenje (A) i mliječno-kiselo vrenje (B).

U mliječno-kiselom vrenju (često u mišićima sisavaca, ali se javlja i kod biljaka) enzim laktat dehidrogenaza koristi NADH kako bi reducirao piruvat do laktata, pri čemu NADH oksidira do NAD^+ i omogućava funkcioniranje glikolize (**Slika 7.2.**). Biljke preferiraju alkoholnu fermentaciju jer etanol lakše difundira iz stanica od laktata te je stoga manje toksičan za biljne stanice.

Glavni nedostatak vrenja leži u tome što se njima ne oslobađa sva energija pohranjena u saharozi. Ako nakon glikolize uslijede fermentacije te od saharoze nastane etanol ili laktat, energetska neto dobit od tih procesa je četiri ATP-a, što iznosi samo 4% od potencijalno iskoristive energije iz molekule saharoze. Većina energije ostaje pohranjena u obliku etanola ili laktata.

7.3. Put pentoza fosfata

U biljnoj stanici uz glikozu postoji još jedan metabolički put oksidacije šećera, to je put pentoza fosfata. Taj proces kataliziraju enzimi koji se nalaze u citosolu i plastidima.

No u prve dvije reakcije ovog procesa dolazi do oksidacije i dekarboksilacije heksoze (glukoza-6-fosfata) do pentoze (ribuloza-5-fosfata), pri čemu nastaju dva NADPH (ne NADH) i oslobađa se CO_2.

U nastavku tog procesa dolazi do konverzije ribuloza-5-fosfata do gliceraldehid-3-fosfata i fruktoza-6-fosfata. Glikolitički enzimi mogu od gliceraldehid-3-fosfata i fruktoza-6-fosfata ponovno stvarati glukoza-6-fosfat. Stoga u potpunoj razgradnji (oksidativnoj dekarboksilaciji) glukoza-6-fosfata do CO_2 nastaje 12 molekula NADPH.

Studijama u kojima je korišten izotop ^{14}C utvrđeno je da je glikoliza dominantni način razgradnje šećera u 80-95% biljnih tkiva. Međutim, put pentoza fosfata ima važnu ulogu u metabolizmu biljke:

1. NADPH nastao ovim procesom služi kao reducens u različitim procesima biosinteze, npr. biosintezi lipida i asimilaciji dušika.
2. NADPH nastao ovim putem može se koristiti u mitohondriju (oksidativnoj fosforilaciji) za nastanak ATP-a ili se uključiti u Calvinov ciklus za redukciju CO_2.
3. Ovim procesom nastaje ribuloza-5-fosfat, prekursor u biosintezi riboze i deoksiriboze potrebnih za sintezu molekula RNK i DNK.
4. Još jedan međuprodukt ovog procesa je eritroza-4-fosfat, koja zajedno s PEP služi za sintezu fenolnih spojeva u biljci.
5. Prije nego se u stanici razvije fotosintetski aparat, ovim putem nastaju međuprodukti koji se uključuju u Calvinov ciklus.

7.4. Ciklus limunske kiseline (Krebsov ciklus)

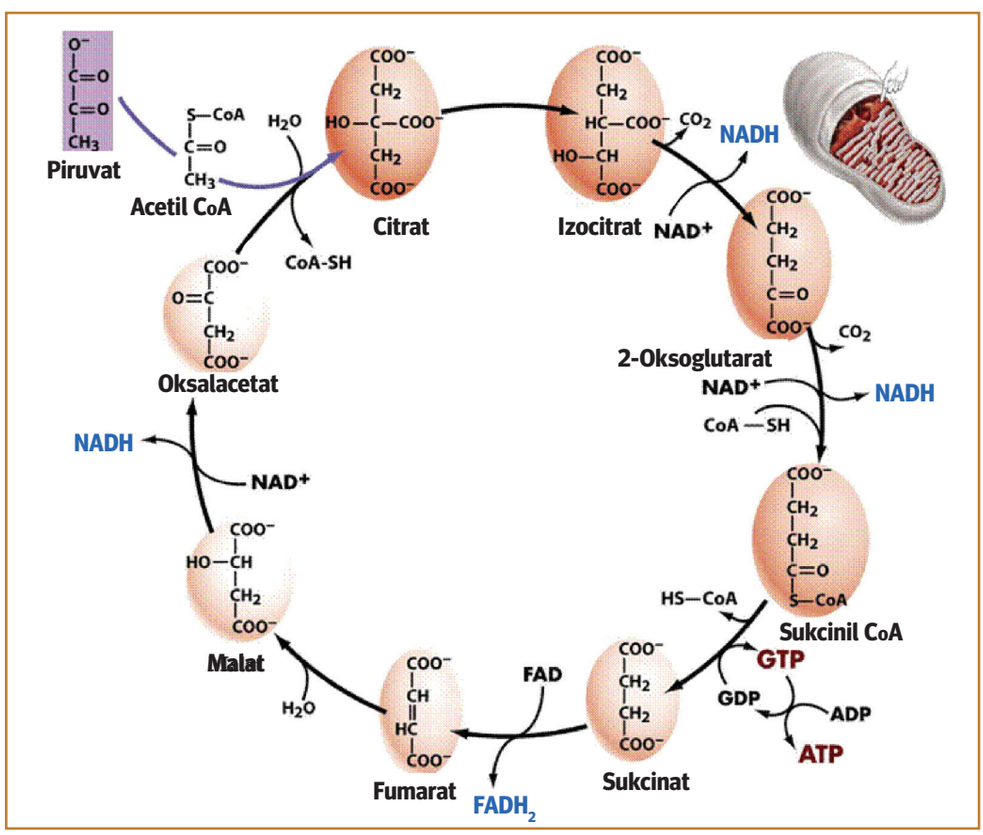
Razgradnja saharoze do piruvata (glikoliza) oslobađa samo 25% ukupne energije saharoze, a ostatak ostaje pohranjen u molekulama piruvata. Preostala dva koraka disanja (ciklus limunske kiseline i oksidativna fosforilacija) odvijaju se u mitohondriju i oslobađaju ostatak energije iz piruvata.

Ciklus limunske kiseline (Krebsov ciklus, citratni ciklus ili ciklus trikarbonskih kiselina) predstavlja proces razgradnje piruvata do CO_2 i H_2O, ali je i mnogo više od toga. Taj proces predstavlja centralni metabolički proces u kojem nastaju mnogi međuprodukti koji predstavljaju ishodišne molekule za brojne metaboličke i biokemijske procese u stanici.

Ciklus limunske kiseline predstavlja drugi korak staničnog disanja i odvija se u matriksu mitohondrija (*vidi poglavlje 1.2.4.*) (**Slika 7.3.**). Piruvat nastao glikolizom ulazi u matriks mitohondrija uz pomoć specifičnog transportnog proteina. U matriksu dolazi do **oksidativne dekarboksilacije** piruvata, koju katalizira enzim **piruvat dehidrogenaza**. Piruvat dehidrogenaza je veliki enzimatski kompleks koji se sastoji od tri podjedinice koje kataliziraju reakciju u kojoj dolazi do **dekarboksilacije, oksidacije** piruvata i **konjugacije s CoA** (koenzimom A). Stoga su produkti ove reakcije **CO_2**, reducirani koenzim **NADH** i **acetil-CoA**.

U sljedećoj reakciji acetil-CoA spaja se s oksaloacetatom te daje trikarbonsku kiselinu (citrat ili limunsku kiselinu). Acetil-CoA posjeduje energijom bogatu tioestersku vezu između acetila i tiolne skupine na CoA, a ta se energija koristi za stvaranje kovalentne veze (C-C) i nastanak citrata pri povezivanju acetil-CoA i oksaloacetata. Citrat se zatim izomerizira u izocitrat (enzim akonitaza). Nakon toga slijede dvije uzastopne reakcije oksidativne dekarboksilacije, a u svakoj od njih dolazi do izlaska po jedne molekule CO_2 i nastanka jedne molekule reduciranog koenzima NADH te nastaje sukcinil-CoA (molekula s četiri C atoma). Tako su iz jedne molekule piruvata (tri C atoma) koja je ušla iz citosola u matriks mitohondrija otpuštene tri molekule CO_2, odnosno 12 molekula CO_2 po jednoj molekuli saharoze, što znači da je organska tvar potpuno razgrađena. Nakon toga slijede reakcije koje omogućuju kontinuirano protjecanje ciklusa limunske kiseline, odnosno reakcije u kojima će se sukcinil-CoA oksidirati do oksaloacetata. Sukcinil-CoA ima energijom vrlo bogatu tioestersku vezu, što se koristi u reakciji **fosforilacije na razini supstrata** u kojoj nastaju ATP i sukcinat. Sukcinat oksidira do fumarata uz pomoć enzima **sukcinat dehidrogenaze**. Ovaj je enzim jedini enzim ciklusa limunske kiseline koji se ne nalazi u matriksu mitohondrija,nego je vezan na **unutarnju membranu mitohondrija** te stoga sudjeluje i u oksidativnoj fosforilaciji. Elektroni i protoni uklonjeni sa sukcinata ne završavaju na NAD^+, nego na FAD (flavin adenin dinukleotid). FAD je kovalentno vezan za enzim sukcinil dehidrogenazu te se reverzibilno reducira u $FADH_2$.

Krajnje dvije reakcije ciklusa limunske kiseline podrazumijevaju hidratizaciju fumarata u malat te oksidaciju malata (enzim malat dehidrogenaza) u **oksaloacetat**, pri čemu se NAD^+ reducira u NADH. Oksaloacetat se ponovno može vezivati s acetil-CoA te se ciklus nastavlja.



Slika 7.3. Reakcije ciklusa limunske kiseline

Specifičnosti ciklusa limunske kiseline u biljkama

Ciklus limunske kiseline koji se odvija u mitohondrijima biljnih stanica razlikuje se od onog u životinjskim stanicama. Prva je razlika što u reakciji **fosforilacije na razini supstrata** (sukcinil-CoA → sukcinat) nastaje **ATP,** dok kod životinjskih stanica nastaje **GTP**.

Druga je važna razlika prisutnost **NAD^+ malatnog enzima** koji katalizira reakciju oksidativne dekarboksilacije malata u piruvat.

Jednadžba te reakcije je: $\text{malat} + NAD^+ \rightarrow \text{piruvat} + CO_2 + NADH$

Prisutnost **NAD^+ malatnog enzima** omogućava mitohondriju biljaka korištenje alternativnih puteva metabolizirania PEP (fosfoenolpiruvata) nastalog glikolizom. Kao što smo naveli, u citosolu iz PEP može doći do sinteze malata (enzimi PEP karboksilaza i malat dehidrogenaza). Malat se zatim transportira u matriks mitohondrija gdje ga NAD^+ malatni enzim dekarboksilira i oksidira u piruvat. Zbog toga malat može nadomjestiti eventualni izlazak određenog spoja iz ciklusa limunske kiseline (koji se može koristiti u drugim metaboličkim procesima, npr. izlazak molekula 2-oksoglutarata koje služe za asimilaciju dušika u kloroplastu). Uz specifičnosti ciklusa limunske kiseline, biljke posjeduju određene specifičnosti i u oksidativnoj fosforilaciji, o čemu će biti riječ u poglavlju 7.5.

7.5. Oksidativna fosforilacija

Na unutarnjoj membrani mitohondrija nalazi se **transportni sustav elektrona** koji služi za prijenos elektrona od reduciranih koenzima NADH i $FADH_2$ (nastalih u ciklusu limunske kiseline) do molekule kisika (O_2) kao krajnjeg akceptora elektrona. Energija transporta elektrona koristi se za sintezu ATP-a (fosforilacija), a elektroni završavaju na kisiku koji reduciraju do vode. NADH (nikotinamid-adenin-dinukleotid) i $FADH_2$ (flavin-adenin-dinukleotid) organski su kofaktori (koenzimi) povezani s mnogim enzimima koji kataliziraju redoks-reakcije u stanici. Oksidirani oblici ovih kofaktora su NAD^+ i FAD koji se mogu reverzibilno reducirati u NADH i $FADH_2$.

Od svake molekule saharoze koja oksidira u procesu glikolize i ciklusa limunske kiseline nastaje 20 molekula NADH (četiri u glikolizi i 16 u ciklusu limunske kiseline) te četiri molekule $FADH_2$. Ovi reducirani koenzimi moraju ponovno oksidirati kako bi se ponovno mogli koristiti u glikolizi i ciklusu limunske kiseline. Transportni sustav elektrona katalizira reakcije prijenosa elektrona s NADH i $FADH_2$ do kisika, pri čemu NADH oksidira do NAD^+, a $FADH_2$ do FAD. Transportni sustav elektrona sastoji se od proteinskih nosača uklopljenih u unutarnju membranu mitohondrija. Transportni proteini spajaju se u multiproteinske komplekse koji se označavaju rimskim brojevima od I do IV (**Slika 7.4.**).

Kompleks I (NADH dehidrogenaza)

Kompleks I (NADH dehidrogenaza) oksidira NADH koji nastaje tijekom ciklusa limunske kiseline. Dakle elektroni s NADH prelaze na proteinske nosače kompleksa I. S kompleksa I elektroni prelaze na **ubikinon**. Ubikinon je zasebni nosač koji nije vezan ni za jedan kompleks, topiv je u lipidima i slobodno se kreće po unutarnjoj membrani mitohondrija. Pri prijenosu elektrona, kompleks I crpi četiri protona (H^+) iz matriksa mitohondrija u međumembranski prostor (prostor između vanjske i unutarnje membrane mitohondrija). S ubikinona elektroni prelaze na **kompleks III**.

Kompleks II (Sukcinat dehidrogenaza)

Sukcinat dehidrogenaza je enzim koji sudjeluje u ciklusu limunske kiseline, gdje katalizira reakciju oksidacije sukcinata u fumarat. U tom procesu dolazi do redukcije FAD u $FADH_2$. $FADH_2$ putem ovog kompleksa predaje svoje elektrone ubikinonu s kojeg elektroni prelaze na kompleks III. Ovaj kompleks ne crpi protone iz matriksa mitohondrija u međumembranski prostor.

Kompleks III (Citokrom bc_1 kompleks)

Ovaj kompleks vrši oksidaciju reduciranog ubikinona (elektroni s ubikinona prelaze na kompleks III). Kompleks III crpi četiri protona (H^+) iz matriksa u međumembranski prostor. Kompleks III preko Fe-S centra prebacuje elektrone na citokrom *b*, a zatim preko citokroma c_1 na citokrom *c*. Citokrom *c* mali je protein labavo vezan za površinu unutarnje membrane mitohondrija te služi kao mobilni nosač elektrona od kompleksa III do kompleksa IV.

Kompleks IV (Citokrom *c* oksidaza)

Ovo je krajnji kompleks koji vrši oksidaciju citokroma *c* s kojeg prenosi četiri elektrona na molekulu kisika (O_2), što rezultira stvaranjem dviju molekula vode (H_2O). Energija transporta elektrona koristi se za crpljenje dvaju protona (H^+) iz matriksa u međumembranski prostor.

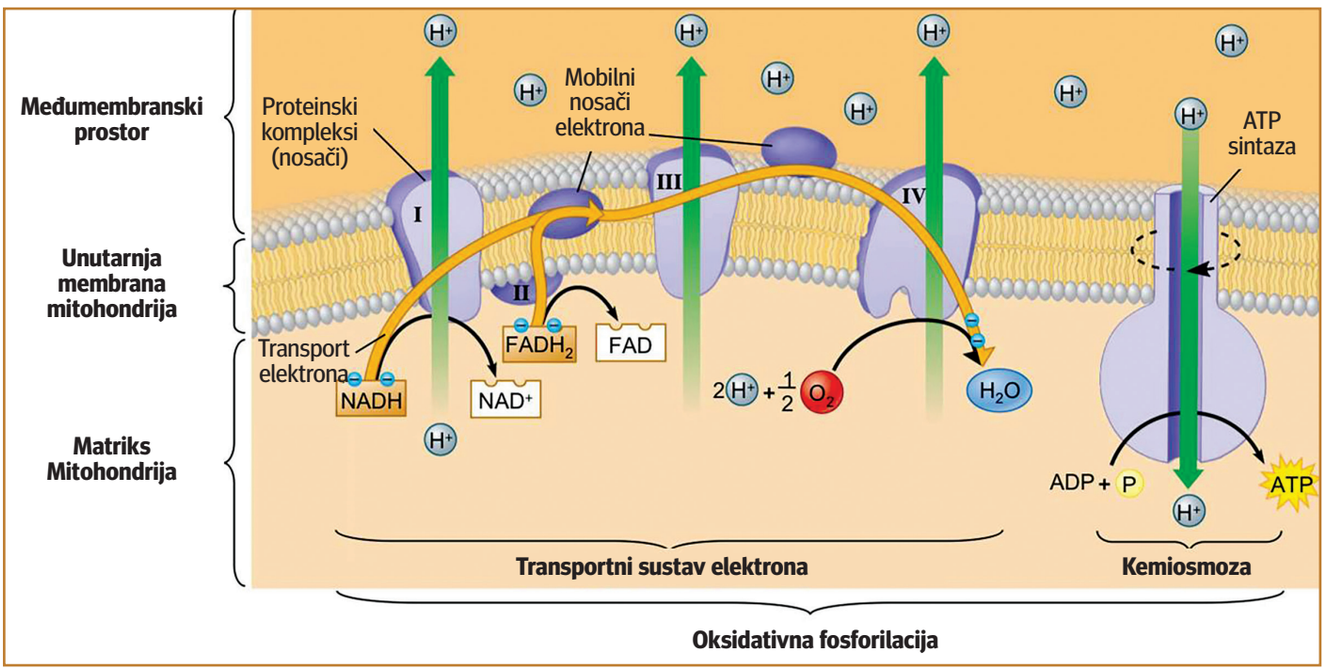
Strukturno i funkcionalno ubikinon i citokrom bc_1 kompleks slični su plastokinonu i citokrom b_6f kompleksu u tilakoidnim membranama kloroplasta.

Sinteza ATP-a

U oksidativnoj fosforilaciji energiju transporta elektrona od NADH i $FADH_2$ do kisika koriste kompleksi I, III i IV za crpljenje protona iz matriksa u međumembranski prostor, a elektrokemijski gradijent nastao zbog razlike u koncentraciji H^+ poprijeko unutarnje membrane mitohondrija koristi enzim ATP sintaza i sintetizira ATP (iz ADP i P_i). Sintezu ATP-a objašnjava **kemiosmotska teorija** (opisana u poglavlju 5.1.5.). Prema toj teoriji, proteinski kompleksi uključeni u transport elektrona po unutarnjoj membrani mitohondrija tako su orijentirani da omogućuju transport protona (H^+) iz matriksa u međumembranski prostor. Zato što je unutarnja membrana mitohondrija nepropusna za protone vodika, poprijeko membrane javlja se razlika u koncentraciji i naboju (elektrokemijski gradijent). Razliku elektrokemijskog potencijala poprijeko membrane koristi enzim ATP sintaza (još se naziva i **kompleks V**), kroz koju se H^+ ioni vraćaju iz međumembranskog prostora natrag u matriks, pri čemu se sintetizira ATP iz ADP i P_i.

Broj molekula ATP-a koji nastaje ovim procesom ovisi o vrsti reduciranog koenzima s kojeg se elektroni otpuštaju u transportni sustav elektrona. Pri prijenosu elektrona s NADH do kisika, elektroni prolaze kompleks I, ubikinon, kompleks III i kompleks IV. Kada se elektroni prenose s $FADH_2$ do kisika, elektroni prolaze kompleks II, ubiki-

non, kompleks III i kompleks IV. Kompleksi I, III i IV koriste energiju transporta elektrona i crpe H^+ iz matriksa u međumembranski prostor, dok kompleks II ne sudjeluje u tom procesu. Kompleksi I i III crpe po četiri H^+, a kompleks IV crpi dva H^+. Stoga se po molekuli NADH poprijeko membrane stvara gradijent od 10 H^+, dok se po molekuli $FADH_2$ stvara gradijent od šest H^+. To je pak razlog što će oksidativnom fosforilacijom po jednoj molekuli NADH nastati tri ATP-a, a po jednoj molekuli $FADH_2$ samo dva ATP-a (**Slika 7.4.**). Također, reducirani koenzimi (NADH) nastali procesom glikolize ili u putu pentoza fosfata (NADPH) mogu ući u mitohondrij te predati svoje elektrone na transportni sustav elektrona. Međutim, unutarnja membrana mitohondrija nepropusna je za ove koenzime. Stoga reducirani koenzimi koji ulaze u mitohondrij iz citosola predaju elektrone na vanjske NAD(P)H dehidrogenaze te time stvaraju dovoljno energije za nastanak samo dva ATP-a (kao i u slučaju $FADH_2$) (**Slika 7.5.**). Osim ovog mehanizma, NADH u citosolu može poslužiti u redukciji dihidroksiaceton fosfata u glicerol-3-fosfat (pri tome NADH oksidira u NAD^+). Glicerol-3-fosfat antiportom s dihidrokisaceton-fosfatom ulazi u mitohondrij. U mitohondriju dolazi do oksidacije glicerol-3-fosfata u dihidroksiaceton fosfat, pri čemu FAD reducira u $FADH_2$. Elektroni s $FADH_2$ služe za sintezu dva ATP-a u oksidativnoj fosforilaciji (**slika 7.4.**).



Slika 7.4. Oksidativna fosforilacija na unutarnjoj membrani mitohondrija

7.6. Cijanid-rezistentno disanje

Neki nosači u transportnom sustavu elektrona specifični su za mitohondrije biljne stanice. Uz standardnih pet (5) enzimskih kompleksa (Kompleks I, II, III, IV i ATP sintaza), biljni mitohondrij sadrži još pet (5) dodatnih enzimskih kompleksa (**Slika 7.5.**). Međutim, ovi dodatni enzimski kompleksi **ne sudjeluju u crpljenju protona** iz matriksa u međumembranski prostor, odnosno ne pridonose stvaranju ATP-a (energije). Stoga njihovim uključivanjem u rad transportnog sustava elektrona nastaje manje ATP-a, u usporedbi s dobitkom energije kada u prijenosu elektrona sudjeluje ranije spomenutih pet enzimskih kompleksa.

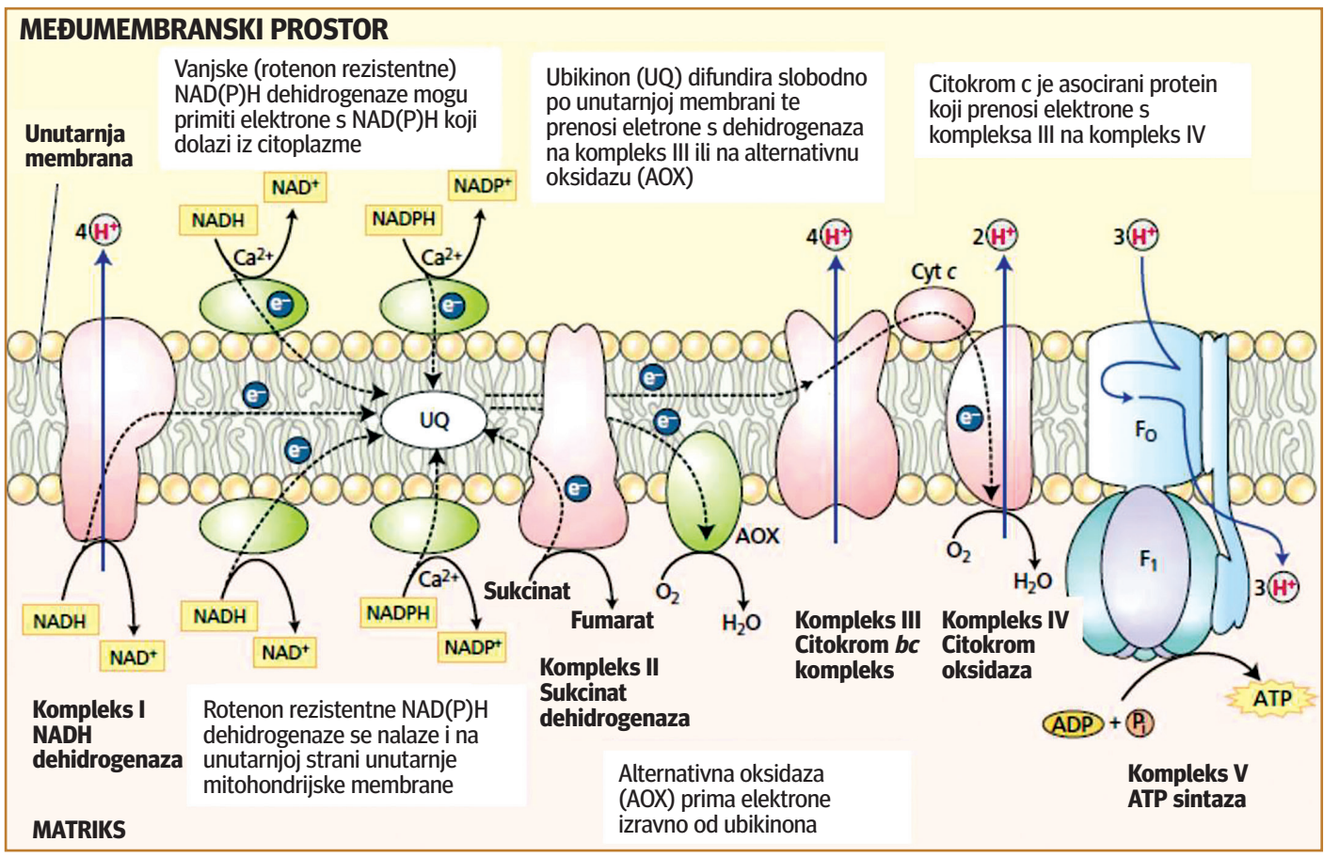
Ti enzimski kompleksi su:

1. Dvije vanjske NAD(P)H dehidrogenaze. Nalaze se na vanjskoj strani unutarnje mitohondrijske membrane (okrenuti prema međumembranskom prostoru mitohondrija). Mogu oksidirati NADH ili NADPH koji u mitohondrij ulazi iz citoplazme (npr. iz procesa glikolize). Elektroni s ovih reduciranih koenzima prelaze na ubikinon i dalje na Kompleks III. Osim kad je riječ o NAD(P)H koji dolazi iz citoplazme, ovaj mehanizam koristi se i u uvjetima toksičnosti rotenona, ili u uvjetima kada je Kompleks I preopterećen, npr. kod fotorespiracije. Rezultat prijenosa elektrona s NAD(P)H izravno na ubikinon, odnosno zaobilaženje Kompleksa I, ima za posljedicu crpljenje manje količine protona iz matriksa u međumembranski prostor te posljedično sintezu manje količine ATP-a.
2. Dvije unutarnje NAD(P)H dehidrogenaze. Nalaze se na unutarnjoj strani unutarnje mitohondrijske membrane prema matriksu mitohondrija). Njihova je uloga slabo poznata.
3. Alternativna oksidaza (AOX). Alternativna oksidaza za razliku od citokrom c oksidaze (Kompleksa IV) nije osjetljiva na cijanid, azid i ugljikov monoksid. AOX se nalazi na unutarnjoj strani unutarnje mitohondrijske

membrane (okrenuta prema matriksu mitohondrija). AOX sudjeluje u tzv. cijanid-rezistentnom disanju. Naime, neki otrovi, poput cijanida, blokiraju rad Kompleksa IV (citokrom c oksidaze), pa prisutnost AOX omogućuje transport elektrona na kisik u prisutnosti cijanida.

Razlika između normalnog i cijanid-rezistentnog disanja je u tome što elektroni s ubikinona ne prelaze na Kompleks III i dalje na Kompleks IV, nego prelaze na AOX (**Slika 7.5.**). Ovaj put za posljedicu ima manju sintezu ATP-a (manje transporta H^+ iz matriksa u međumembranski prostor zbog zaobilaženja Kompleksa III i IV u transportu elektrona), no omogućuje disanje u prisutnosti toksičnih spojeva poput cijanida ili ugljikova monoksida.

Fiziološka uloga ovog tipa disanja nije u potpunosti poznata. Smatra se da omogućuje toleriranje nekih stresnih uvjeta, da sudjeluje u disanju klimakterijskih plodova (***vidi poglavlje 9.4.2.***), kod nekih slučajeva inhibicije Krebsova ciklusa, u stvaranju termogenog tkiva (biljna tkiva koja se intenzivno zagrijavaju, npr. cvjetovi nekih biljaka) i sl. Do zagrijavanja tkiva dolazi zbog skraćivanja transporta elektrona i sinteze ATP-a. Naime, zaobilaskom Kompleksa III i IV i prijenosom na alternativnu oksidazu dio energije elektrona oslobađa se u obliku topline.



Slika 7.5. Organizacija transportnog sustava elektrona na unutarnjoj membrani mitohondrija. Uz standardnih pet proteinskih kompleksa prikazanih i na slici 7.4. , ovdje su zelenom bojom prikazani dodatni enzimski kompleksi te mogući putevi transporta elektrona koji uključuju aktivnost tih enzima. Ni jedan od tih dodatnih enzimskih kompleksa ne sudjeluje u stvaranju protonskog gradijenta (ne crpe H^+ iz matriksa u međumembranski prostor). Specifični inhibitori kao što su rotenon za Kompleks I, antimicin za Kompleks III i cijanid za Kompleks IV blokiraju normalni transport elektrona. Cijanid-rezistentno disanje uključuje rad alternativne oksidaze (AOX)

8. Rast i razvoj

Biljka fotosintezom stvara organsku tvar koja joj služi za rast, razvoj i razmnožavanje. Procesom disanja ta organska tvar oksidira do anorganskih spojeva, pri čemu se oslobađa energija potrebna za sve metaboličke procese tijekom rasta i razvoja. Za razliku od životinjskih stanica, biljna je stanica obavijena relativno tankom (uz iznimku nekih specijaliziranih tkiva kod kojih je stanična stijenka deblja), ali mehanički vrlo čvrstom staničnom stijenkom. Stanična stijenka građena je od kompleksnih polisaharida (celuloze, hemiceluloze i pektina) te strukturnih proteina, enzima, fenolnih polimera i drugih spojeva koji modificiraju njena svojstva. Stanična stijenka ima dvije osnovne funkcije: regulira volumen i oblik stanice. U ovom ćemo poglavlju ukratko ponoviti strukturu stanične stijenke te ćemo objasniti mehanizam biosinteze staničnih stijenki. Zatim ćemo govoriti o ulozi primarne stanične stijenke u rastu stanice. U nastavku poglavlja govorit ćemo o utjecaju vanjskih čimbenika na važne procese razvoja biljke. Razvoj biljnog organizma obuhvaća vrlo kompleksne mehanizme i promjene u biljci koji su pod znatnim utjecajem vanjskih čimbenika. Razumijevanje razvojnih procesa daleko nadilazi tematiku i obujam ove skripte. Stoga ćemo se zadržati na nekoliko za poljoprivredu važnih razvojnih procesa kao što su embriogeneza, cvatnja (fotoperiodizam i vernalizacija) i senescencija.

Na početku poglavlja potrebno je definirati neke pojmove koje ćemo koristiti:

- **Rast** – povećanje veličine (volumena, broja stanica, svježe mase, suhe mase...)
- **Diferencijacija** – proces specijalizacije stanica, nastanak različitih tipova stanica s različitim strukturnim i funkcionalnim svojstvima
- **Razvoj** – rast + diferencijacija, rast i diferencijacija stanica u tkiva, organe i organizam
- **Morfogeneza** – "stvaranje oblika", rezultat je različitih uzoraka diobe i rasta stanica.

8.1. Struktura i biosinteza stanične stijenke

Stanična stijenka daje oblik i čvrstoću biljnom organizmu. Uz to, stanična stijenka ima vrlo važnu ulogu u mnogim procesima vezanim uz rast, razvoj i reprodukciju biljnog organizma:

1. daje mehaničku čvrstoću biljnim organima te im omogućuje rast u visinu
2. međusobno spaja i sljepljuje stanice
3. djeluje kao egzoskelet te određuje oblik stanice i omogućuje razvoj turgora
4. morfogeneza biljaka ovisi o staničnoj stijenci, odnosno izgled biljke uvjetovan je svojstvima stanične stijenke
5. sudjeluje u regulaciji vodnog potencijala stanice jer regulira odnos između volumena stanice i turgora
6. osigurava čvrstoću ksilemu u kojem se javlja jak negativni tlak te sprečava kolaps ksilemskih elemenata
7. predstavlja barijeru slobodnoj difuziji jer limitira veličinu (promjer) makromolekula koje prolaze kroz nju i dolaze u kontakt sa staničnom membranom.

Velik dio polisaharida koji nastaju fotosintezom koristi se u sintezi stanične stijenke. Tijekom određenih faza razvoja neki od tih polimera se hidroliziraju, a polisaharidi se koriste za izgradnju novih dijelova staničnih stijenki (npr. iz sjemena se mobiliziraju svi polimeri – stanična stijenka služi kao rezerva).

Građa stanične stijenke ovisi o biljnom tkivu. Stanična stijenka ima niz funkcija u biljnom organizmu, a te funkcije proizlaze iz njene različite strukture. Primjerice, vanjska stanična stijenka epiderme nema plazmodezmije i mnogo je deblja od stanične stijenke ostalih ploha stanice; uz to, često je zaštićena kutikulom, suberinom, silikatima i sl. Također, kod stanica zapornica puči – unutarnja strana stanice (strana okrenuta prema otvoru puči) ima deblju, a vanjska strana (strana okrenuta prema međustaničnim prostorima i stanicama susjedicama) ima tanju staničnu stijenku.

Bez obzira na raznovrsnost morfologije staničnih stijenki, one se najčešće dijele u dvije skupine: **primarne** i **sekundarne** stanične stijenke. Ova podjela nije temeljena na strukturalnim ili biokemijskim razlikama, nego na razvojnom stadiju stanice koja sintetizira staničnu stijenku.

Primarne stanične stijenke nastaju tijekom rasta stanice te su najčešće nespecijalizirane (dakle, nemaju specifičnu ulogu u biljci), odnosno sve primarne stanične stijenke imaju vrlo sličnu strukturu.

Sekundarne stanične stijenke nastaju nakon što stanica završi s rastom. One mogu postati visokospecijalizirane ovisno o tipu stanice koju okružuju (npr. stanične stijenke ksilema).

Na spojevima između dviju susjednih stanica nalazi se nakupina pektinske tvari i proteina koju nazivamo **središnja lamela.** Središnja lamela nastaje iz **stanične ploče** koja se javlja tijekom diobe stanice. Stanična stijenka najčešće je ispresijecana (perforirana) plazmodezmijama koje povezuju susjedne stanice.

Primarna stanična stijenka

Primarna stanična stijenka sastoji se od celuloznih mikrofibrila uronjenih u hidratizirani polisaharidni matriks. Polisaharidi koji grade matriks su pektini i hemiceluloza uz manji udio strukturnih proteina.

Celulozne mikrofibrile relativno su krute i rigidne strukture koje pridonose mehaničkoj čvrstoći stanične stijenke. Izgrađene su od lanaca glukoze koji se čvrsto povezuju i vrlo pravilno razmještaju te čine tzv. **kristalične** regije stanične stijenke. Kao što sama riječ kaže, kristalične regije vrlo su pravilno građene, vrlo su čvrste i otporne su na enzimatsku razgradnju. Stoga je celuloza vrlo čvrsta, postojana i otporna na razgradnju.

Sinteza celuloznih mikrofibrila odvija se u staničnoj membrani, a za nju su odgovorne nakupine proteina, tzv. **terminalni kompleksi** ili čestične rozete.

Hemiceluloza je fleksibilni polisaharid koji se specifično

veže na površinu celuloznih mikrofibrila te ih međusobno isprepleće u mrežu. Sastoji se od većeg broja polisaharida.

Pektini tvore hidratizirani želatinozni dio stanične stijenke u koji je uronjena mreža celuloznih mikrofibrila povezanih uz pomoć hemiceluloze. Služe kao hidrofilna ispuna koja sprečava agregaciju i kolaps celulozne mreže. Također, određuju poroznost stanične stijenke. Kao i hemiceluloza, i pektini se sastoje od većeg broja polisaharida.

Polisaharidi koji čine matriks (hemiceluloza i pektini) sintetiziraju se na Golgijevu aparatu, a sekrecija se vrši uz pomoć vezikula (egzocitoza). Uz opisane polisaharide u strukturu stanične stijenke ulaze i **strukturni proteini**. Za neke od njih uloga nije poznata, no broj im se povećava u slučaju ozljeđivanja stanice te napada patogena. Primarne stanične stijenke sintetiziraju se *de novo* na kraju diobe stanice kad novonastala **stanična ploča** odvoji dvije stanice kćeri te postaje čvrsta stanična stijenka koja može podnijeti turgor. Proces formiranja stanične ploče slijedi nakon mitoze. Tijekom mitoze, u kasnoj anafazi i ranoj telofazi dolazi do formiranja **fragmoplasta**. Fragmoplast je struktura koja se javlja na mjestu buduće stanične ploče i stanične stijenke stanice, a sastavljena je od mikrotubula i endoplazmatskog retikuluma. Fragmoplast omogućuje (usmjerava) dostavu vezikula koje transportiraju gradivne elemente staničnih stijenki do rastuće stanične ploče. Membrane vezikula spajaju se međusobno i s bočnim staničnim membranama, pri čemu stvaraju membranu koja odvaja stanice kćeri. Sadržaj koji se oslobađa iz vezikula predstavlja prekursore za sintezu središnje lamele i primarne stanične stijenke. Nakon što nastane primarna stanična stijenka, njen rast se nastavlja, uz dopremu i ugradnju novih gradivnih elemenata i prisutnost odgovarajućeg turgora. Sinteza elemenata stanične stijenke već je opisana, a u nastavku ćemo opisati načine povezivanja pojedinih elemenata u staničnu stijenku.

Samopovezivanje

Polisaharidi koji izgrađuju staničnu stijenku imaju tendenciju spontane agregacije u organiziranu strukturu. Primjerice u *in vitro* pokusima ako se hemiceluloza otopi u jakoj lužini (NaOH), a zatim se ukloni iz lužine, ona ponovno spontano stvara koncentrične mrežaste tvorevine. Nadalje, celuloza se također može otopiti (u jakim organskim otapalima), a zatim se može ekstrudirati, pri čemu se ponovno spaja u vlakna.

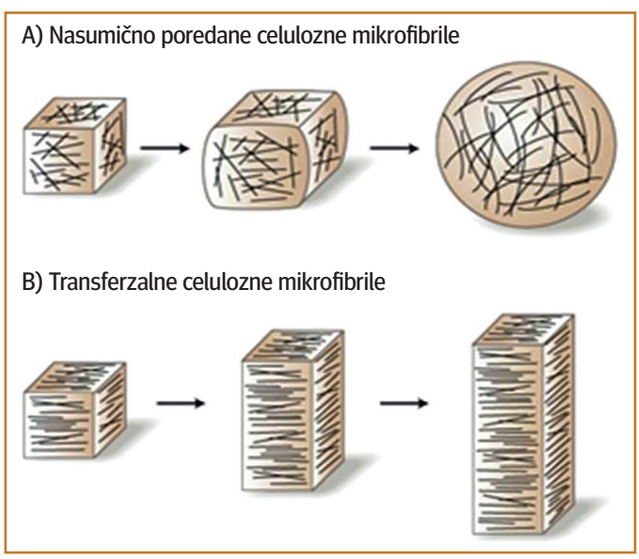
Povezivanje uz pomoć enzima

Na staničnoj stijenci postoje brojni enzimi koji služe za povezivanje njenih elemenata. Sekundarna stanična stijenka sintetizira se nakon prestanka rasta stanice. Sekundarne se stijenke sintetiziraju između staničnih membrana i primarnih staničnih stijenki. Često su višeslojne te im se građa razlikuje od primarne stanične stijenke, primjerice, često su impregnirane ligninom. Lignin je fenolni polimer čiji se glavni prekursori sintetiziraju iz fenilalanina. Tijekom lignifikacije sekundarne stanične stijenke zbog hidrofobnih svojstava lignina dolazi do istiskivanja vode iz strukture stanične stijenke. Lignin daje dodatnu čvrstoću stijenci, povećava njenu otpornost na enzimatsku razgradnju i napad patogena.

8.2. Smjer rasta stanica

Tijekom rasta stanica novi gradivni elementi kontinuirano se sintetiziraju i oslobađaju u izvanstanični prostor, a paralelno s tim odvija se i ekspanzija stanične stijenke. Rast (ekspanzija) stanične stijenke može biti vrlo lokaliziran (**vršni rast**) ili može biti raspoređen po cijeloj površini stanične stijenke (**difuzni rast**). Vršni rast je specifičan za polenovu mješinicu i korijenove dlačice, dok većina ostalih stanica pokazuje difuzni rast. Međutim, i kod stanica s difuznim rastom određeni dijelovi stanice mogu rasti brže ili sporije i u različitim smjerovima.

Orijentacija mikrofibrila određuje smjer rasta kod stanica s difuznim tipom rasta. Tijekom rasta omekšana stanična stijenka širi se pod utjecajem turgora koji djeluje na sve dijelove stanične stijenke jednakom silom. Stoga će smjer rasta ovisiti prvenstveno o strukturi stanične stijenke, točnije o orijentaciji celuloznih mikrofibrila. Kada stanice prvi put nastanu u meristemu, one imaju jednake duljine svih stranica. Kad bi mikrofibrile u staničnim stijenkama bile randomizirane (nasumično poredane), stanica bi podjednako rasla u svim smjerovima (**Slika 8.1.**). Međutim, kod većine staničnih stijenki mikrofibrile nisu nasumično poredane, nego prate određeni smjer. Celulozne mikrofibrile uglavnom se sintetiziraju u postranim (bočnim) stijenkama izduženih stanica (takve su stanice kore i žila). Osim toga, celulozne mikrofibrile u tim se stijenkama postavljaju transverzalno, odnosno pod pravim kutom na glavnu os stanice (što sprečava rast u širinu, a omogućuje rast u dužinu). Smjer mikrofibrila u staničnim stijenkama određen je smjerom mikrotubula (citoskeletnih elemenata) u citoplazmi (koji se nalaze u blizini stanične membrane). Mikrotubuli služe poput tračnica koje usmjeravaju celulozne mikrofibrile sintetizirane na enzimskim kompleksima celuloza sintaze **(CESA).**



Slika 8.1. Smjer rasta stanice u ovisnosti o orijentaciji celuloznih mikrofibrila

8.3. Brzina rasta stanica

Nakon diobe majčinske stanice volumen novonastalih stanica kćeri raste 10 do 100 puta prije nego što one dosegnu zrelost. U nekim slučajevima (npr. stanice ksilema) narastu i do 10 000 puta u odnosu na meristemske stanice iz kojih se razviju. Pri tom rastu stanične stijenke ne mijenjaju ni svoju strukturu, ni funkciju, niti postaju tanje, što znači da dolazi do ugradnje novih polimera u stanične stijenke, bez njihove destabilizacije.

Ovo je osobito zahtjevan proces za tkiva koja pokazuju vršni rast, gdje dolazi do vrlo brzog rasta lokaliziranog dijela tkiva – stanica tubularnog oblika. U takvim slučajevima mora postojati vrlo dobra usklađenost između rasta stanica i ugradnje novih elemenata u staničnu stijenku.

8.4. Diferencijacija

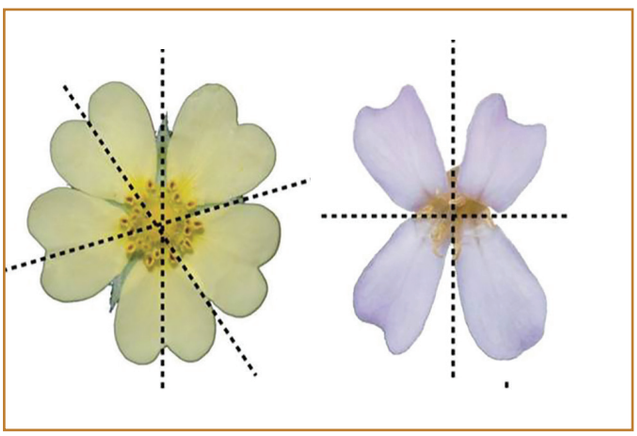
Diferencijacija je proces u kojem stanica poprima određena metabolička, strukturna i funkcionalna svojstva. Kod biljaka, za razliku od životinja, proces diferencijacije često je reverzibilan. Osobito kada se pojedine (diferencirane) stanice uklone s biljke i stave u *in vitro* uvjete. U tim uvjetima stanice gube svojstva koja su stekle diferencijacijom te ponovno započinju proces diobe, a u slučaju tretiranja određenim hormonima mogu stvoriti potpuno novu biljku. Mogućnost da diferencirana stanica ponovno uđe u embrionalnu fazu ukazuje na činjenicu da biljne stanice zadržavaju svu potrebnu genetsku informaciju za obnovu i ponovni rast čitave biljke. To se svojstvo naziva **totipotentnost**. Jedina iznimka ovog pravila su stanice bez jezgre, kao što su sitaste cijevi floema te stanice ksilema (koje su zapravo mrtve).

8.5. Embriogeneza

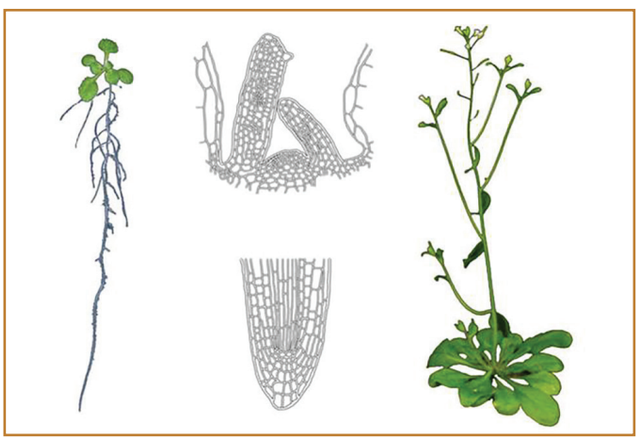
Rast se odvija diobom stanica i njihovim rastom. Vegetativni rast započinje embriogenezom, no nastavlja se čitavog života biljke. Embriogeneza je proces koji se odvija nakon oplodnje i nastanka zigote te njenih početnih diobi koje rezultiraju nastankom embrija. Tijekom embriogeneze nastaju osnovni dijelovi biljnog organizma te embrij sadrži začetke budućih organa odrasle biljke – primarne meristeme koji se aktiviraju tijekom klijanja i stvaraju sva ostala tkiva i organe odrasle biljke.

Tijekom embriogeneze dolazi do formiranja dvaju osnovnih razvojnih obrazaca po kojima se biljka razvija kasnije u svim svojim razvojnim fazama, a to su:

- Radijalna simetrija – obrazac po kojem su suprotne strane osi simetrične (npr. lijeva i desna strana biljke, **Slika 8.2.**)
- Polarnost (apikalno-bazalni razvoj) – obrazac po kojem su suprotne strane osi različite (npr. korijen i izboj, gornja i donja strana lista itd., **Slika 8.3.**)



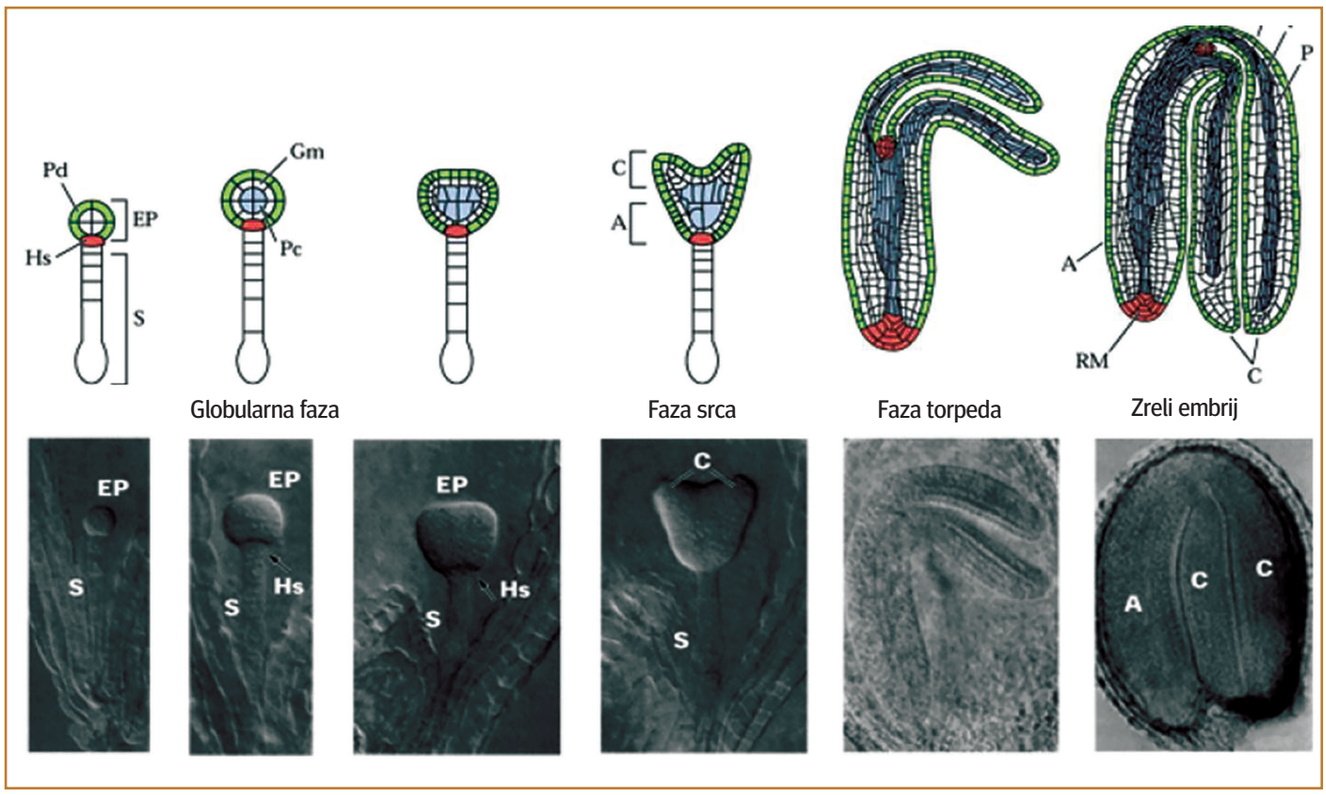
Slika 8.2. Simetrija kod biljaka



Slika 8.3. Polarnost kod biljaka (npr. razlike u razvoju nadzemnih organa i korijena)

Embriogeneza dikotiledona prolazi četiri razvojne faze (**Slika 8.4.**):

1. Globularna faza – prve diobe nakon oplodnje i nastanka zigote
2. Faza srca – brza dioba stanica, nastaju začeci budućih kotiledona
3. Faza torpeda – izduživanje stanica, daljnji razvoj kotiledona
4. Faza sazrijevanja embrija – gubitak vode i usporavanje metabolizma.



Slika 8.4. Embriogeneza dikotiledona (faze razvoja embrija)

Trajno embrionalna tkiva kod biljaka nazivaju se meristemi. Ova tkiva zadržavaju embrionalni karakter tijekom čitavog života biljaka (i kod višegodišnjih biljaka i više od 1000 godina). Meristemi su tkiva koja sadrže male izodijametrične stanice koje zadržavaju mogućnost diobe, odnosno nikada ne diferenciraju.

Meristemi ne samo da stvaraju nova tkiva koja grade biljne organe nego konstantno obnavljaju sami sebe. Nakon diobe meristemske stanice i nastanka dviju stanica kćeri najčešće jedna stanica zadržava meristemski (embrionalni) karakter, dok druga stanica može ući u dodatne diobe, a zatim diferencira. Kao što je već navedeno, primarni meristemi (npr. apikalni meristem korijena i apikalni meristem izboja) nastaju tijekom embriogeneze.

Međutim, neka meristemska tkiva nastaju tijekom postembrionalnog razvoja. Takvi meristemi nazivaju se sekundarni meristemi (lateralni meristemi – žilni i plutni kambij, interkalarni meristemi, cvatni meristemi, aksilarni meristemi).

8.6. Postembrionalni razvoj i regulacija cvatnje

Tijekom postembrionalnog rasta apikalni meristem izboja prolazi kroz tri razvojne faze:

1. juvenilna faza
2. adultna vegetativna faza
3. adultna reproduktivna faza (generativna faza).

Osnovna je razlika između juvenilne faze i adultne vegetativne faze što se u adultnoj vegetativnoj fazi mogu stvarati reproduktivni organi. Međutim, hoće li doći do prelaska adultne vegetativne u adultnu reproduktivnu fazu ovisi o mnogim okolišnim čimbenicima. Stoga, činjenica da neka biljka ne cvate spontano ne znači da je ona još u juvenilnoj fazi (možda je u pitanju nedostatak čimbenika koji će pobuditi cvatnju).

Prijelaz juvenilne u adultnu fazu je postupan, a očituje se promjenom morfologije lista, položajem i rasporedom listova na biljci (filotaksija), promjenom kapaciteta ukorjenjivanja itd. Juvenilna faza može trajati vrlo kratko (nekoliko dana) do nekoliko godina (čak 30-40 godina). Prijelaz iz juvenilne u adultnu fazu često je ovisan o veličini biljke.

Da bi biljka prešla iz juvenilne u adultnu fazu, postizanje određene veličine često je važnije od toga koja je njena dob (starost).

Uvjeti koji inhibiraju rast, kao što su nedostatak hran-

jiva, nedostatak vode, slabo osvjetljenje i niske temperature, produljuju juvenilnu fazu, a u nekim slučajevima mogu izazvati rejuvenaciju biljaka koje su u adultnom stadiju (povratak u juvenilnu fazu). Jednom kada biljka uđe u adultnu fazu, ona ostaje u njoj relativno stabilna. Ta se faza zadržava čak i pri vegetativnom razmnožavanju biljaka (cijepljenje, reznice i sl.).

Prijelaz iz juvenilne u adultnu fazu može biti izazvan određenim biljnim metabolitima. Primjerice, slab intenzitet svjetla produljuje juvenilnu fazu. Osnovni je uzrok te pojave redukcija opskrbe vegetacijskog vrha ugljikohidratima, osobito saharozom.

Osim opskrbe šećerima, utjecaj imaju i opskrba hranjivima i hormonima, osobito giberelinima. Prijelaz vegetativne faze rasta biljke u generativnu fazu obilježen je pojavom cvatnje. Taj prijelaz zahtijeva znatne promjene morfogeneze i diferencijacije stanica apikalnih meristema. Te promjene obuhvaćaju stvaranje specijaliziranih organa cvijeta. Cvjetovi predstavljaju kompleksne organe čija se građa i funkcija znatno razlikuje od one vegetativnih organa. Pri prelasku vegetativne u generativnu fazu možemo razlikovati dva procesa: **proces diferencijacije cvijeta** (proces nastanka dijelova budućeg cvijeta) i **pobuđivanje cvatnje** (inicijacija otvaranja cvijeta). Ovdje nećemo obrađivati procese diferencijacije i morfogeneze cvijeta niti njegovu građu, nego ćemo se zadržati na osnovnim procesima koji dovode do prelaska vegetativne u generativnu fazu rasta biljke, tj. do pobuđivanja cvatnje. Cvjetanje mogu pokrenuti endogeni čimbenici, npr. starost biljke, dnevni ritmovi i hormoni rasta. No kod mnogih vrsta cvjetanje je pod kontrolom okolišnih uvjeta i javlja se samo u određeno doba godine (npr. u proljeće). Prije nego što se fokusiramo na to kako okolišni čimbenici (duljina dana i temperature) reguliraju cvatnju, ukratko ćemo se osvrnuti na **cirkadijalni ritam,** tj. kako biljke „mjere vrijeme“.

8.6.1. Cirkadijalni ritam

Biljni je organizam izložen dnevnim ritmovima promjene dana i noći te sukladno tome pokazuje određeno ritmično ponašanje. Primjerice, kod graha se listovi podižu u zoru, a spuštaju pred večer. Ako biljku graha zamračimo i držimo u mraku nekoliko dana, ona će i dalje nastaviti dizati listove u zoru, a spuštati ih pred večer, što upućuje na postojanje dnevnih endogenih ritmova. Dnevne ritmove pokazuju i drugi procesi, poput otvaranja i zatvaranja puči, diobe stanica, intenziteta disanja, intenziteta fotosinteze i dr. Ovakvi ritmovi prate 24-satno vrijeme, zbog čega se nazivaju cirkadijalni ritmovi. Zbog toga što se takvi ritmovi javljaju i u uvjetima dugotrajnog mraka ili osvjetljenja (nekoliko dana), zaključujemo da oni nisu pod utjecajem izmjena dana i noći, nego da u biljci postoje neki unutarnji mehanizmi koji ih reguliraju.

Cirkadijalni ritam javlja se pod utjecajem cikličkog fenomena koji opisuju tri parametra:

1. Period – vrijeme trajanja između dva ponavljanja ciklusa
2. Faza – specifična promjena koju uočavamo na biljci
3. Amplituda – udaljenost između dvije faze, može biti varijabilna, dok je period konstantan.

U uvjetima konstantne svjetlosti ili tame ritam odstupa od točnih 24 h (skraćuje se ili produljuje), no pri normalnim izmjenama dana i noći okolišni signali sinkroniziraju ritam na točno 24 h. Glavni okolišni signal je svjetlost, iako slabo djelovanje ima i temperatura.

8.6.2. Fotoperiodizam

Fotoperiodizam je sposobnost biljnog organizam da prepozna duljinu dana (trajanje dana i noći), što omogućuje određene sezonske promjene na biljci (cvatnja, odbacivanje lišća, mirovanje, dormantnost itd). Zajedničko svojstvo cirkadijalnog ritma i fotoperiodizma je percepcija svjetlosti.

Na ekvatoru dan i noć traju jednako dugo (12:12 h). Kako se udaljavamo od ekvatora prema polovima, ljeti dan postaje sve dulji, a noć sve kraća, dok je zimi obrnuto. Biljke su se prilagodile tim sezonskim promjenama duljine dana i noći. Kad je riječ o fotoperiodizmu, jasno je da biljka mora na neki način prepoznati vrijeme trajanja osvjetljenja ili tame. To endogeno mjerenje vremena omogućuju joj cirkadijalni ritmovi.

Iako fotoperiodizam utječe na mnoge aspekte razvoja biljke, kada govorimo o podjeli biljaka prema njihovoj osjetljivosti na duljinu dana (fotoperiodizam), ona se vrši s obzirom na duljinu dana koja izaziva cvatnju. S obzirom na fotoperiodizam, biljke možemo podijeliti na:

1. Biljke kratkog dana (BKD) – cvatu u uvjetima kratkog dana, pritom razlikujemo:
   a) biljke koje cvatu isključivo u uvjetima kratkog dana (neće cvasti u uvjetima dugog dana) i to su tzv. kvalitativne BKD
   b) biljke čiju cvatnju stimuliraju i ubrzavaju kratki dani, to su tzv. kvantitativne BKD
2. Biljke dugog dana (BDD) – cvatu u uvjetima dugog dana, pritom razlikujemo:
   a) biljke koje cvatu isključivo u uvjetima dugog dana (neće cvasti u uvjetima kratkog dana) i to su tzv. kvalitativne BDD;
   b) biljke čiju cvatnju stimuliraju i ubrzavaju dugi dani, to su tzv. kvantitativne BDD.

Razlika između tih dviju skupina biljaka leži u **kritičnoj duljini dana**. Tako biljke dugog dana cvatu kada dan traje **dulje**, a biljke kratkog dana kada dan traje **kraće** od **kritične duljine dana.** Vrijednost kritične duljine dana različita je za različite biljne vrste. Biljke dugog dana prepoznaju da dan traje dulje u proljeće i odgađaju cvatnju sve dok se ne postigne kritična duljina dana (npr. pšenica). Biljke kratkog dana (npr. krizantema) često cvatu u jesen kada dan traje kraće od kritične duljine dana. Međutim, fotoperiod (trajanje dana) može biti jednak u proljeće i jesen, stoga biljke uz fotoperiodizam posjeduju još neke mehanizme koji im „govore“ radi li se o proljeću

ili o jeseni. Jedna od prilagodbi kombinira fotoperiodizam i osjetljivost na temperaturu. Tako, primjerice, ozima pšenica ne reagira na duljinu dana sve dok ne prođe period niskih temperatura (vernalizacija – o čemu će biti riječ u sljedećem poglavlju). Druga vrsta prilagodbe jest prepoznavanje dolazi li do skraćivanja ili produljivanja dana (skraćivanje dana prema jeseni ili produljivanje dana u proljeće).

Takve biljke dodatno dijelimo na:

1. Biljke dugo-kratkog dana – cvatu u uvjetima kratkih dana koji uslijede nakon perioda dugih dana (cvatu u jesen kada su dani kraći, a koji slijede nakon duljih ljetnih dana)
2. Biljke kratko-dugog dana – cvatu u uvjetima dugih dana koji uslijede nakon perioda kratkih dana (cvatu u proljeće kada su dani dulji, a koji slijede nakon kratkih zimskih dana).

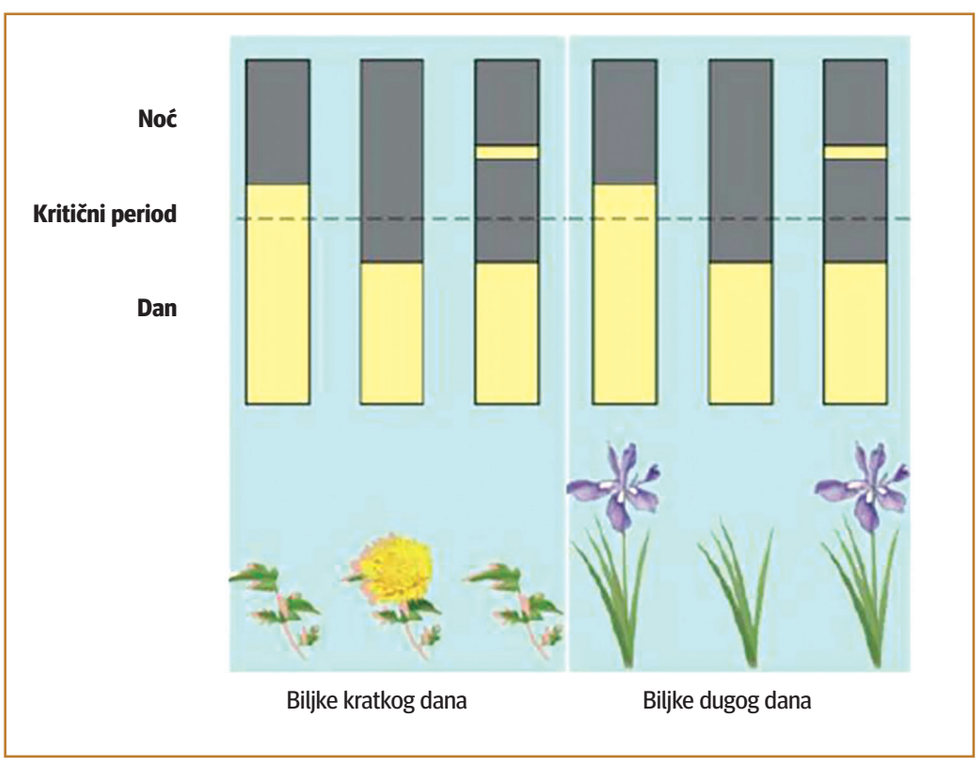
Uz to postoje i biljke neutralne na duljinu dana (dnevno neutralne biljke) koje cvatu u svim uvjetima. Neki primjeri biljaka kratkog dana, biljaka dugog dana te dnevno neutralnih biljaka prikazani su **tablicom 8.1.**

Biljke kratkog dana	Biljke dugog dana	Dnevno neutralne biljke
krizantema	zob	grašak
soja	duhan (kvantitativna)	krastavac
riža	ljulj	pastrnjak
grah	blitva	božikovina
kukuruz	pšenica (kvantitativna)	
suncokret (kvantitativna)	raž (kvantitativna)	

Tablica 8.1. Primjeri biljaka kratkog dana, biljaka dugog dana i dnevno neutralnih biljaka

U prirodnim uvjetima izmjena dana i noći odvija se unutar 24 h. Mnogo je znanstvenih istraživanja provedeno kako bi se utvrdilo koji čimbenik (svjetlost ili mrak) pobuđuje cvatnju. Rezultati su pokazali da je kod biljka kratkog dana zapravo bitna duljina perioda tame jer će te biljke cvasti i pri duljinama dana većim od kritične duljine dana ako se nakon toga izlože dovoljno dugom periodu tame (**Slika 8.5.**). Uz to, biljke kratkog dana nisu cvale ako su bile izložene kratkim danima i kratkim noćima.

S druge strane, duljina perioda tame (noći) regulira cvatnju i kod biljaka dugog dana. Pokusima je utvrđeno da biljke dugog dana cvatu u uvjetima kratkog dana ako su nakon toga izložene kratkim noćima (kratak period tame), dok kod izmjene dugih dana i dugih noći nisu cvale. Za prepoznavanje duljine dana i noći zaduženi su listovi (i kod BKD i kod BDD). Procesi koji se zbivaju u listovima pod utjecajem fotoperiodizma rezultiraju prenošenjem signala iz listova do vrška izdanka gdje pobuđuju cvatnju. Signal koji izaziva cvatnju još nije poznat iako pokusi upućuju na to da se radi o kemijskim tvarima koje se prenose floemom.



Slika 8.5. Regulacija cvatnje različitom duljinom dana (fotoperiodizam)

Za percepciju duljine dana i noći, kao i za reakcije na većinu drugih svjetlosnih podražaja zaduženi su specijalizirani fotoreceptori koji se nazivaju **fitokromi**. Fitokromi su proteini koji najjače apsorbiraju crvenu i dugovalno crvenu, a u manjoj mjeri i plavu svjetlost. Ovi proteini imaju ključnu ulogu u svim razvojnim procesima koje regulira svjetlost.

To su u vodi topivi proteini koji se sastoje od polipeptidnog lanca (apoproteina) i molekule pigmenta zaduženog za apsorpciju svjetlosti (kromoforna skupina). Kromoforna skupina fitokroma naziva se **fitokromobilin** i sintetizira se u plastidima, odakle difundira u citosol gdje se spaja (autokatalizom – spontano) s apoproteinom. Najviše fitokroma sadrže etiolirani dijelovi biljke (klijanci i sl.) te meristemi.

Fitokromi mogu reverzibilno mijenjati oblik. Naime, nakon sinteze fitokromi se nalaze u obliku koji apsorbira crvenu svjetlost i taj se oblik označava kao **Pr** (taj je oblik prisutan i u tami).

Osvjetljavanjem Pr oblika, on apsorbira crvenu svjetlost te mu se mijenja konformacija u oblik koji apsorbira dugovalnu crvenu svjetlost **Pfr**. Nadalje, osvjetljavanjem Pfr dugovalnom crvenom svjetlošću on prelazi u Pr oblik. Ova se pojava naziva **fotoreverzibilnost.**

Fiziološki aktivni oblik fitokroma je Pfr.

Osim raspoznavanja duljine dana i noći, fitokromi su važni u upravljanju cirkadijalnim ritmom te u regulaciji klijanja (npr. salate), cvatnje i sl.

8.6.3. Vernalizacija

Vernalizacija je proces u kojem niske temperature pobuđuju cvatnju. Bez tretmana niskim temperaturama, biljke koje zahtijevaju vernalizaciju ostaju u vegetativnoj fazi. Mnoge biljke koje zahtijevaju vernalizaciju imaju rozetast rast (**Slika 8.6.**).

Biljke se znatno razlikuju prema životnoj dobi u kojoj su osjetljive na vernalizaciju. Biljke poput ozimih žitarica (siju se u jesen, prezimljavaju u polju, a na proljeće cvatu) mogu proći proces vernalizacije čak i prije klijanja.

Slika 8.6. Biljke *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. koje nisu prošle vernalizaciju (lijevo) i biljke iste vrste nakon vernalizacije (desno).

Jedini uvjet je da u sjemenu počnu metabolički procesi. Većina dvogodišnjih biljaka (u prvoj godini stvaraju vegetativnu masu, najčešće u obliku rozete, a cvatu na proljeće ili ljeto sljedeće godine) mora postići određenu veličinu da bi mogle biti vernalizirane.

Efektivne temperature kod kojih se odvija vernalizacija su između 0 (malo iznad 0 °C) i 10 °C. Duljina trajanja vernalizacije različita je kod različitih biljnih vrsta, čak i sorti iste vrste. Učinak vernalizacije može biti izgubljen ako se tijekom perioda vernalizacije (izlaganja niskim temperaturama) pojavi period visokih temperatura. Međutim, što period vernalizacije dulje traje (što su biljke dulje izložene niskim temperaturama), to je njen učinak stabilniji. Proces vernalizacije odvija se u apikalnom meristemu nadzemnih izboja. Kao što smo objasnili kod fotoperiodizma, i ovdje je često potrebna kombinacija faktora da bi biljka zapravo cvala.

Najčešće je riječ o kombinaciji vernalizacije i fotoperiodizma (npr. biljke će cvasti nakon perioda niskih temperatura ako uslijede dugi dani).

Važna je pretpostavka što se vernalizacija odvija u metabolički aktivnim tkivima. Za njeno odvijanje potrebna je energija (šećeri i kisik), a vrlo niske temperature (kod kojih biljna tkiva miruju) zaustavljaju proces vernalizacije.

8.7. Senescencija i programirana smrt stanica

Senescencija predstavlja normalni razvojni proces starenja biljnih organa koji je pod kontrolom genoma biljke. Razlikujemo više tipova senescencije ona se može odvijati na pojedinom organu ili na razini čitave biljke, a najbolji je primjer otpadanje lišća bjelogoričnog drveća. Senescencija lišća genetski je određena. Međutim, njezin početak može biti izazvan vanjskim čimbenicima.

Senescencijom se obnavlja dio hranjiva i asimilata utrošenih za razvoj pojedinog biljnog organa. Tijekom senescencije hidrolitički enzimi razgrađuju mnoge stanične makromolekule (proteine, ugljikohidrate, lipide) na jednostavnije spojeve koji se povlače iz tih organa i retranslociraju floemom. Senescencija je često povezana s **apscizijom** (otpadanjem) organa. O apsciziji ćemo više govoriti u ***poglavlju 9.4.***

Mnoge jednogodišnje kulture (kukuruz, pšenica, soja i dr.) stare i odumiru vrlo brzo nakon stvaranja ploda, čak i u optimalnim uvjetima za rast. Senescenciju čitavog biljnog organizma nakon završetka jednog reproduktivnog ciklusa nazivamo **monokarpna senescencija**.

Kod višegodišnjih kultura razlikujemo više tipova senescencije:

- senescencija plodova
- sinkrona senescencija – npr. otpadanje svog lišća u jesen (bjelogorica)
- sekvencijska senescencija – npr. otpadanje listova kad dosegnu određenu dob.

9. Hormoni

Razvoj i funkcija višestaničnih organizama ne bi bili mogući bez učinkovite komunikacije između stanica, tkiva i organa. Kod viših biljaka regulaciju i koordinaciju metabolizma, rasta i morfogeneze obavljaju hormoni. Koncept postojanja kemijskih signala koji će služiti za komunikaciju između stanica, tkiva i organa predložio je Julius von Sachs.

Sachs je smatrao da formiranje i rast pojedinih biljnih organa reguliraju kemijske tvari (kemijski glasnici). Također je smatrao da vanjski čimbenici poput gravitacije mogu utjecati na raspodjelu tih kemijskih tvari u biljci.

Hormoni su signalne molekule koje u vrlo niskim koncentracijama imaju izraženo djelovanje na rast i razvoj biljaka. Hormoni se sintetiziraju u jednom dijelu biljke, a prenose se i u druge dijelove biljke gdje iskazuju svoje djelovanje. Postoji pet tipova biljnih hormona: **auksini, citokinini, giberelini, apscizinska kiselina i etilen**. No noviji podaci upućuju na činjenicu da postoji još nekoliko kemijskih tvari s hormonskim djelovanjem, primjerice **biljni steroidi** (brasinosteroidi). Također, pronađene su mnoge tvari koje imaju ulogu u zaštiti biljaka od patogena i herbivora (jasmonska kiselina, salicinska kiselina, polipeptid sistemin).

9.1 Auksini – hormoni rasta

Auksin, odnosno indol octena kiselina (IAA), prvi je pronađeni biljni hormon te su rana istraživanja rasta stanice vezana uz djelovanje auksina.

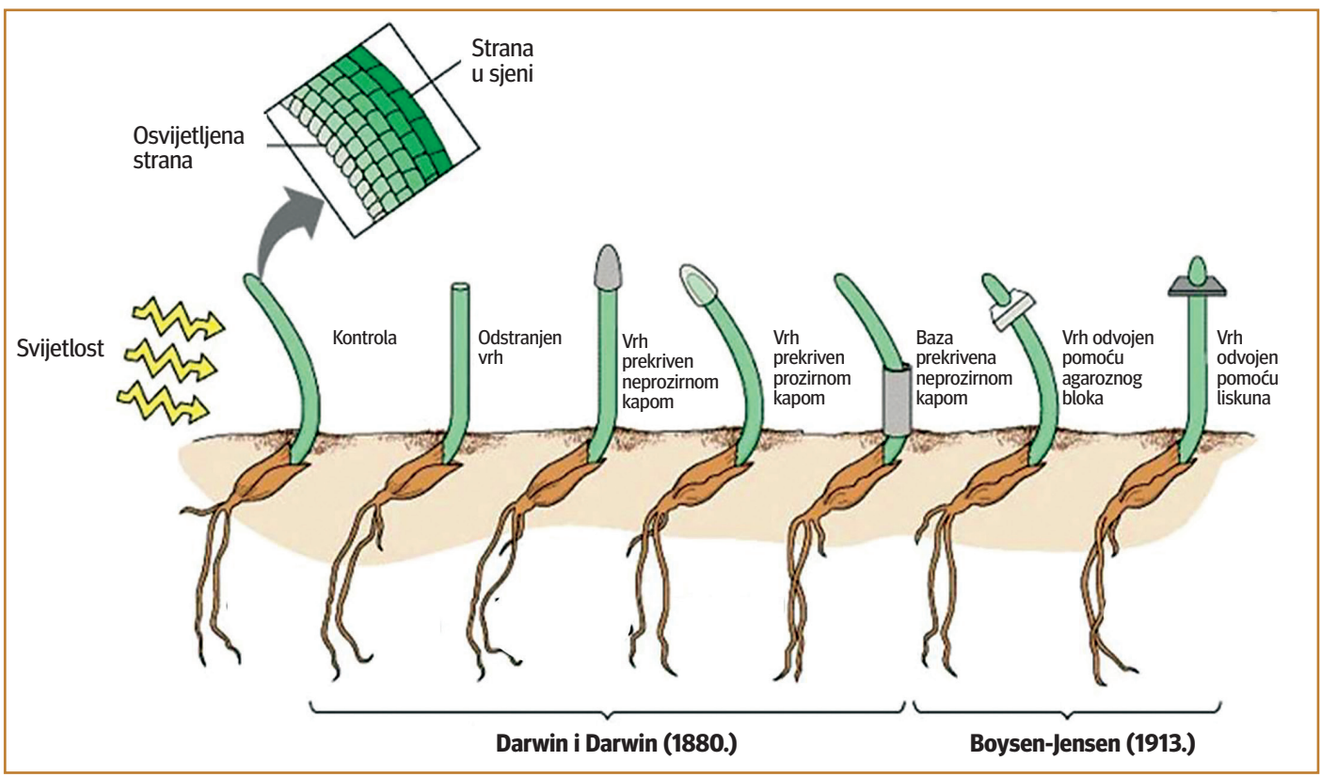
Zajedno s citokininima, IAA predstavlja hormon koji je esencijalan za život biljke. Točnije, nedostatak auksina i citokinina letalan je za biljku. Ostali biljni hormoni djeluju na principu *off/on*, dok su auksini i citokinini potrebni tijekom čitavog života biljaka u većim ili manjim koncentracijama.

Ovo poglavlje započinjemo kratkim pregledom istraživanja koja su rezultirala pronalaskom IAA, jer ćemo tako objasniti mjesta njegove sinteze, ali i specifične reakcije biljke na neke od vanjskih podražaja, o čemu će detaljnije biti riječ kasnije u ovom, kao i u sljedećem poglavlju (Poglavlje 10).

Zatim ćemo ukratko opisati biosintezu IAA i način transporta u biljci, a naposljetku ćemo opisati fiziološke reakcije biljaka koje su pod utjecajem IAA (elongacija stanica, apikalna dominacija, inicijacija korijena, razvoj ploda, tropizmi).

9.1.1. Pronalazak auksina

Krajem 19. st. Charles i Francis Darwin proučavaju rast biljaka. Jedna od pojava koju su željeli istražiti bila je rast biljaka prema izvoru svjetlosti (fototropizam). Darwini su u tu svrhu koristili klijance kanarske trave (*Phalaris canariensis*) čiji su prvi listovi pri klijanju (kao i kod ostalih trava) zaštićeni **koleoptilom**. Koleoptila je vrlo osjetljiva na svjetlost, osobito plavu svjetlost. Ako se koleoptila osvijetli jednostranom svjetlošću, ona će vrlo brzo (unutar 1 h) početi rasti prema izvoru svjetlosti.



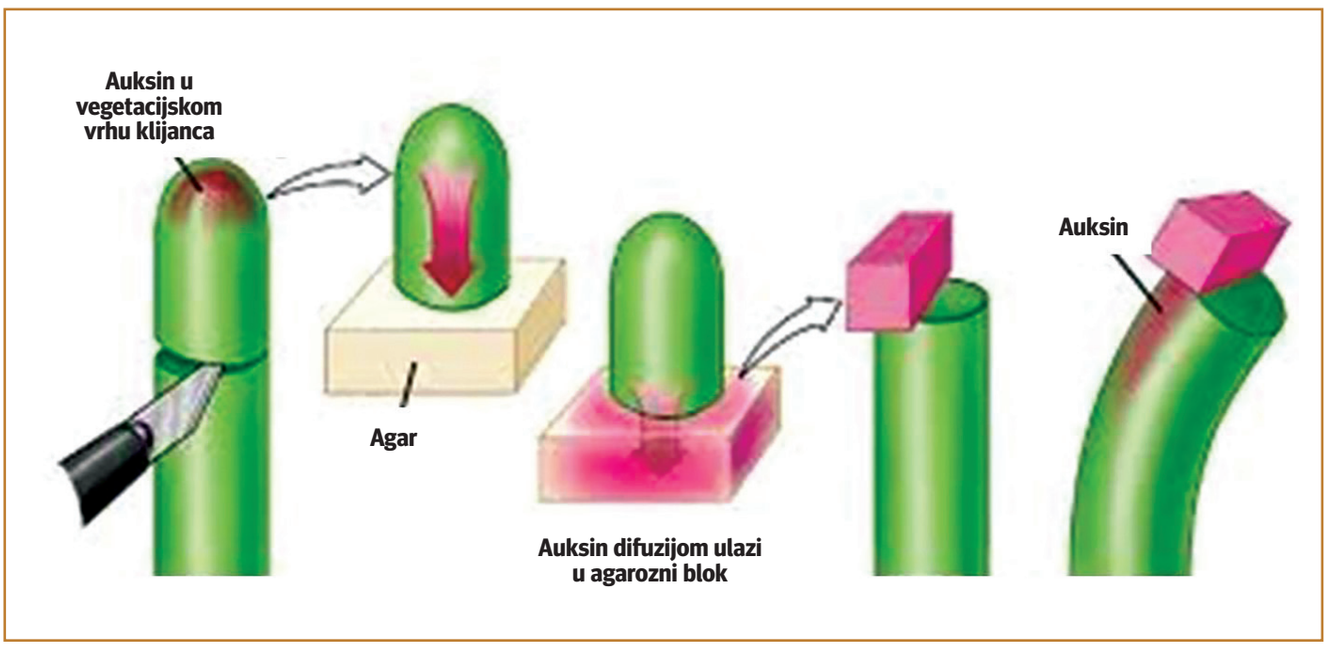
Slika 9.1. Fototropizam i prvi pokusi vezani uz proučavanje fototropizma

Darwini su utvrdili da se percepcija svjetlosti odvija u vršku koleoptile, zato što prekrivanje koleoptile neprozirnom kapom sprečava njezin rast prema izvoru svjetlosti (**slika 9.1.**). No zona rasta, koja je odgovorna za zakrivljenost koleoptile prema svjetlu, nalazi se nekoliko milimetara od vrha. Stoga zaključuju da postoji neka vrsta signala koja će pod utjecajem svjetlosti nastati u vrhu i omogućiti brži rast zasjenjene strane koleoptile u usporedbi s osvijetljenom stranom, čime će izazvati zakrivljenost koleoptile prema svjetlosti.

Uslijedili su mnogi pokusi (npr. Boysen-Jensen, 1913.) koji su kulminirali pokusima Fritza Wenta koji je dokazao postojanje tvari koja potiče rast (promotora rasta) u vegetacijskom vrhu koleoptile zobi (*Avena sativa*). Dotad je bilo poznato da će se odstranjivanjem vrha koleoptile rast klijanca zaustaviti.

Went je koristio isječke agaroznog gela na koje je postavio odstranjene vrhove koleoptila (**Slika 9.2.**), čime je omogućio difuziju promotora rasta iz vrhova koleoptila u isječke agaroznih gelova. Vraćanjem agaroznih gelova na vrh klijanca (umjesto vrhova koleoptile) izazvao je usmjereni rast (zakrivljenost) koleoptile prema izvoru svjetlosti.

Tvar koja je izazvala rast, odnosno taj promotor rasta nazvan je **auksin** od grčke riječi *auxein*, što znači *povećati*, odnosno *rasti*.



Slika 9.2. Wentov pokus dokazivanja difuzije auksina (1926.): difuzija auksina iz vegetacijskih vrhova u agar i iz agaroznog gela u stabljiku te izazivanje fototropizma

9.1.2. Biosinteza i metabolizam auksina

U mnogim istraživanjima koja su uslijedila nakon Wentova pokusa otkriven je sastav auksina (promotora rasta), a zbog mogućnosti njegove komercijalne primjene u agronomiji otkrivene su i mnoge slične kemijske supstancije koje imaju auksinski učinak na biljke.

Prema kemijskom sastavu, auksin je **indol-3-octena kiselina** (IAA). Zbog jednostavnosti građe auksina, kemijska industrija vrlo je brzo nakon otkrića njegove strukture uspjela sintetizirati niz molekula s auksinskim djelovanjem (neki auksini koriste se i kao herbicidi, npr. 2,4-diklorfenoksioctena kiselina ili 2,4-D te 2-metoksi-3,6-diklorbenzojeva kiselina ili dicamba). Osim IAA, u biljkama su pronađena još tri prirodna spoja koja pokazuju auksinsko djelovanje, a to su indol-3-maslačna kiselina (IBA), 4-klorindol-3-octena kiselina (4-Cl-IAA) i feniloctena kiselina (PAA). Ti su spojevi pronađeni i u slobodnim i u konjugiranim oblicima.

Mjesto sinteze auksina u biljci su **meristemi i mlada tkiva koja rastu**. Iako sva biljna tkiva mogu sintetizirati auksine, glavnim izvorima smatraju se **apikalni meristem izboja** i **mladi listovi**. Vrlo važno mjesto sinteze je i korijenov apikalni meristem (vegetacijski vrh). Međutim, većina auksina u korijenu porijeklom je iz nadzemnih dijelova biljke. Postoji nekoliko biokemijskih puteva biosinteze IAA.

Prekursor u sintezi je aminokiselina **triptofan** (može poslužiti i indol-3-glicerol fosfat, koji je zapravo prekursor za sintezu samog triptofana).

Uz mjesta sinteze, velike količine IAA nalaze se u sjemenu i skladišnim organima. No taj je IAA kovalentno vezan (**konjugiran**) za organske molekule velike i male molekularne mase. Konjugirani IAA fiziološki je inaktivan, ali se brzo može aktivirati enzimatskom razgradnjom.

Dva su osnovna oblika konjugacije IAA:

1. Konjugacija s niskomolekularnim organskim spojevima (konjugacija s metilnom skupinom, glukozom, mio-inozitolom, amidima...) – lako se hidroliziraju i brzo otpuštaju IAA
2. Konjugacija s visokomolekularnim organskim spojevima (konjugacija s glukanima (lanci 5-70 glukoza), peptidima i glikoproteinima) – predstavljaju reverzibilnu rezervu IAA.

Metabolizam konjugiranih oblika IAA predstavlja osnovni mehanizam regulacije koncentracije slobodnog IAA. Npr. u endospermu sjemena kukuruza IAA je konjugirana s mio-inozitolom. Pri klijanju se konjugirana IAA (IAA-mio-inozitol) iz endosperma floemom transportira do koleoptile te je većina IAA koja se nalazi u vrhu koleoptile zapravo IAA oslobođena hidrolizom konjugiranog oblika.

Uz to, vanjski čimbenici poput svjetlosti i gravitacije utječu na stupanj konjugacije, kao i hidrolize konjugirane IAA.

Djelovanje hormona ovisi o njihovoj, relativno niskoj koncentraciji u stanicama ili tkivu. Stoga je razgradnja hormona jednako važna kao i njihova biosinteza i konjugacija. Ako mu koncentracija premaši optimalne vrijednosti, biljka razgrađuje višak IAA. Slično biosintezi, postoji veći broj metaboličkih puteva razgradnje IAA. Najčešće IAA oksidira do oksindol-3-octene kiseline (OxIAA) te se nakon toga prevodi u OxIAA-glukozu. Osim toga, uočena je i razgradnja auksina pod utjecajem svjetlosti, što dodatno potiče prisutnost biljnog pigmenta riboflavina.

9.1.3. Transport auksina

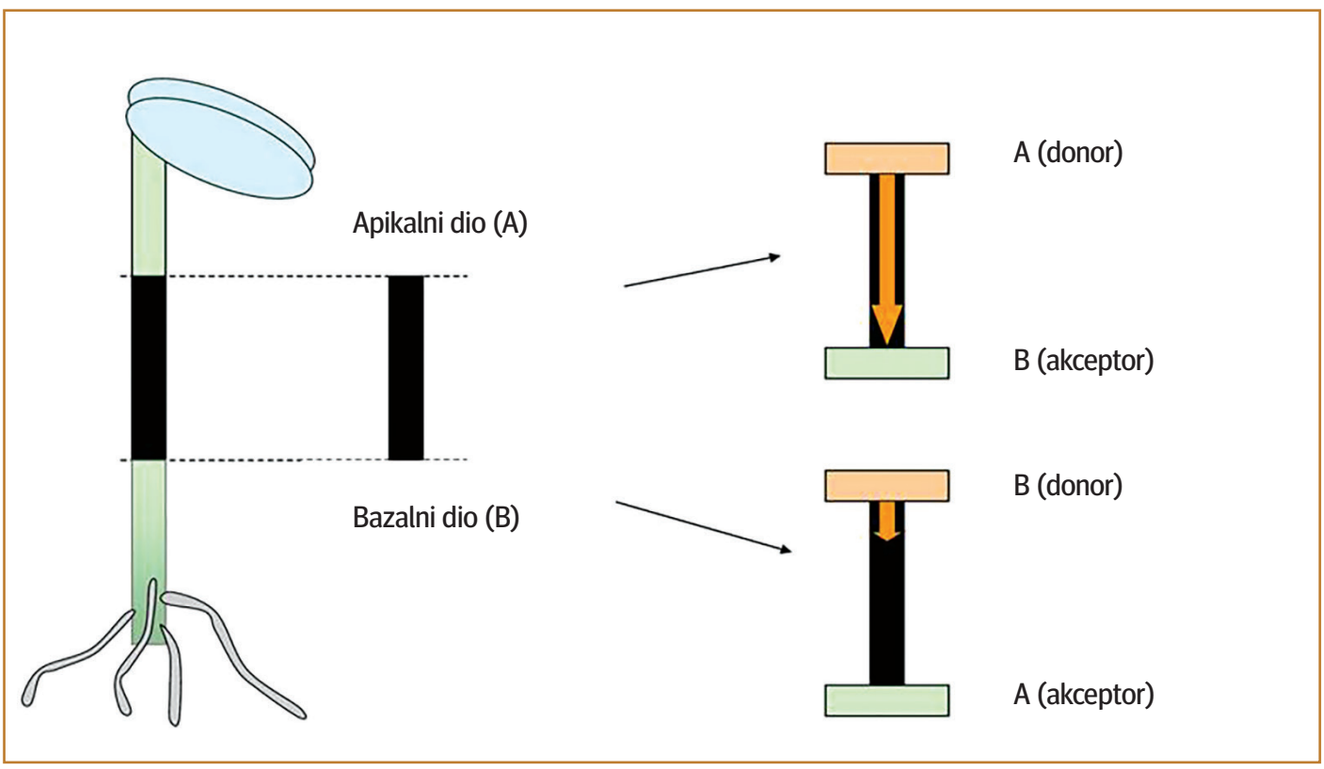
Glavne osi nadzemnih izboja, kao i korijena, te njihove postrane grane predstavljaju polarne strukture (baza-vrh), a ta polarnost proizlazi iz polarnosti transporta IAA.

IAA se u biljci kreće bazipetalno (od vrha prema bazi). Takav tip jednosmjernog transporta naziva se **polarni transport**. Auksin je jedini hormon koji se transportira polarnim transportom. Budući da se auksin uglavnom sintetizira u vegetacijskim vrhovima nadzemnih izboja te se transportira prema bazi biljke, njegov koncentracijski gradijent od vrha biljke do korijena utječe na mnoge razvojne procese (elongacija stabljike, apikalna dominacija, zarastanje rana, senescencija).

Auksini se također transportiraju floemom te je floemski transport osnovni način akropetalnog (od baze prema vrhu) transporta auksina u korijenu.

Polarni transport auksina ovisan je o energiji, a neovisan o gravitaciji (**Slika 9.3.**). Polarni transport ne koristi simplast, nego se odvija od stanice do stanice (transmembranski). Dakle, auksini izlaze iz jedne stanice preko membrane, ulaze u međustanični prostor (apoplast), a zatim preko membrane ulaze u drugu stanicu. Brzina tog transporta iznosi 5-20 mm h^{-1} (što je brže od difuzije, ali sporije od floemskog transporta). Polarnim transportom prenose se samo aktivni auksini (što znači da u staničnim membranama postoje specifični proteinski nosači za auksine). Većina se auksina od mjesta sinteze (mlado lišće) transportira uz pomoć floema. No u korijenu (od izdanka prema korijenovu vrhu) te za redistribuciju na kratke udaljenosti javlja se sporiji transport koji koristi žilni kambij. Ta dva puta translokacije povezana su na mnogim mjestima punjenja floema u listovima i pražnjenja floema u korijenu.

Polarni transport auksina objašnjen je **kemiosmotskim modelom**. Prema ovoj teoriji, do ulaska auksina u stanicu dolazi zbog protonskog gradijenta poprijeko membrane, dok se auksini izbacuju iz stanice zbog membranskog potencijala. Osnovna pretpostavka za ovakav transport auksina jest da su proteinski nosači koji transportiraju IAA iz stanice smješteni na bazalnim (donjim) dijelovima stanica (**Slika 9.4.**).



Slika 9.3. Polarni transport auksina; ne ovisi o položaju biljnih organa i gravitaciji

Ulazak auksina u stanicu odvija se na dva moguća načina (**Slika 9.4.**):

1. difuzija protoniranog auksina (IAAH) kroz fosfolipidni dvosloj
2. sekundarnim aktivnim transportom disociranog auksina (IAA^-) uz pomoć $2H^+$-IAA^- simportera.

Permeabilnost membrane za protonirani auksin (IAAH) ovisi o pH vrijednosti apoplasta. Nedisocirani oblik (IAAH), kod kojeg je karboksilna skupina protonirana, predstavlja lipofilnu molekulu koja može difundirati kroz fosfolipidni dvosloj. Za razliku od IAAH, disocirani oblik (IAA^-) polarna je molekula koja ne može difundirati kroz fosfolipidni dvosloj. No membranske H^+-ATPaze konstantno izlučuju H^+ ione u apoplast te zakiseljavaju staničnu stijenku (pH oko 5). Pri toj pH vrijednosti apoplasta gotovo polovica auksina nalazi se u nedisociranom obliku (IAAH) koji pasivno difundira kroz staničnu membranu niz koncentracijski gradijent.

Sekundarni aktivni transport odvija se uz pomoć specifičnih proteinskih nosača na staničnoj membrani (H^+-IAA^- simporter) koji u stanicu ubacuje dva protona (H^+) i jedan anion auksina (IAA^-). Ovaj proces za razliku od difuzije omogućuje povećanje koncentracije auksina u stanici.

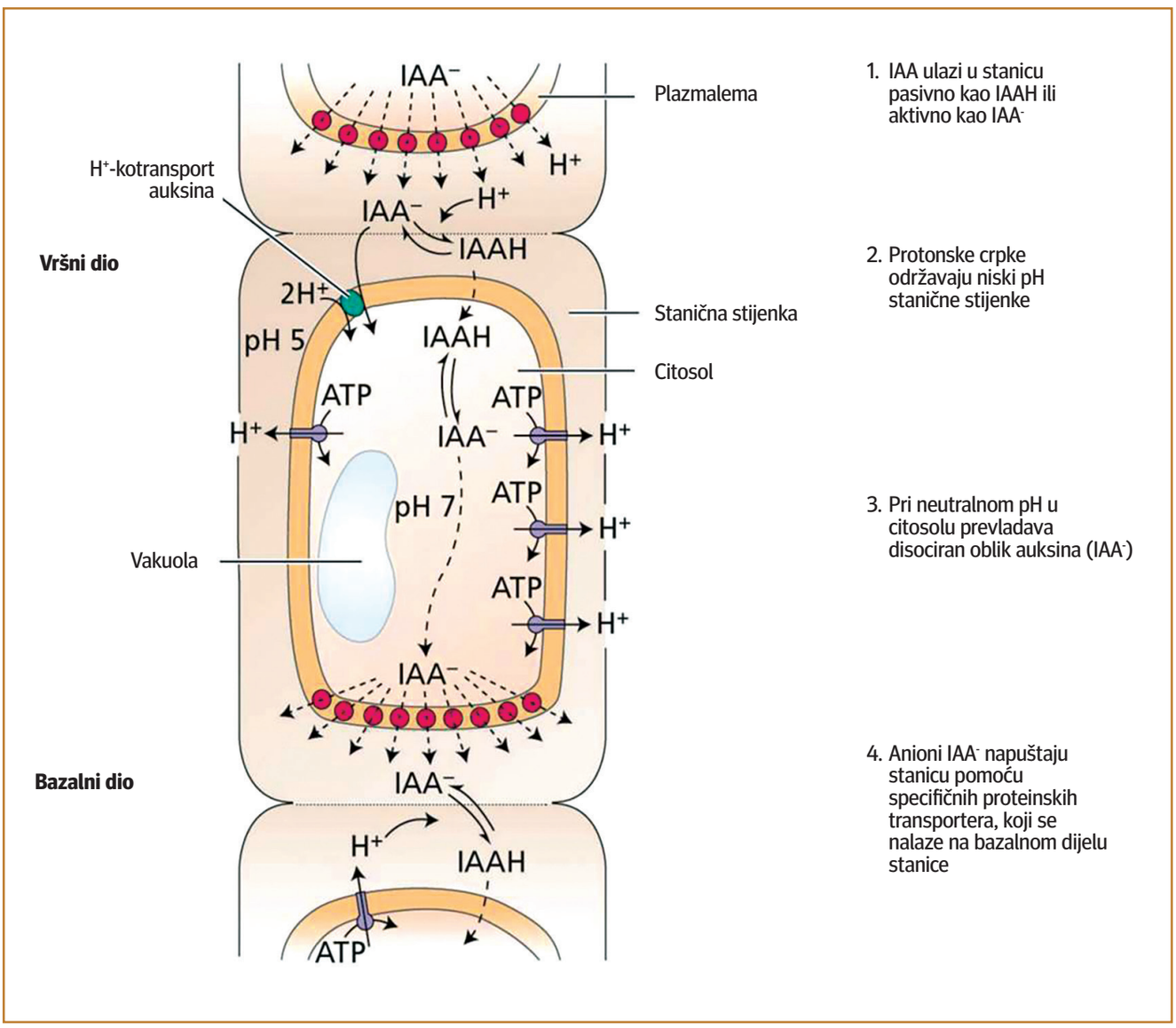
Izlazak auksina iz stanice (**Slika 9.4.**)

Nakon što auksin uđe u stanicu (pH citosola je oko 7,2), on disocira i u stanici se nalazi u obliku aniona (IAA^-). IAA^- ne može pasivno proći staničnu membranu i stoga se njegova koncentracija u stanici povećava. No većina IAA^- iz stanice se izbacuje uz pomoć IAA^- specifičnog proteinskog nosača. Izbacivanje IAA^- iz stanice potaknuto je negativnim potencijalom unutarnjeg dijela stanične membrane.

Središnje mjesto u kemiosmotskom modelu polarnog transporta auksina zauzima smještaj IAA^- proteinskih nosača uz pomoć kojih se IAA^- izbacuje iz stanica. Ti su nosači smješteni na bazalnom (donjem) dijelu stanice.

Osim polarnog transporta, auksini se transportiraju i nepolarno floemom.

Auksini koji se sintetiziraju u zrelom lišću zajedno s asimilatima transportiraju se floemom na pasivni način (bez utroška energije). Takav transport predstavlja osnovni način opskrbe korijena auksinima.



Slika 9.4. Mehanizam transporta auksina poprijeko stanične membrane

9.1.4. Fiziološki učinci auksina

U fiziološke učinke auksina ubrajaju se:

1. poticanje rasta koleoptile i stabljike te inhibicija rasta korijena
   a. fototropizam
   b. geotropizam
   c. tigmotropizam
2. apikalna dominacija
3. regulacija razvoja cvatnih pupova
4. poticanje razvoja adventivnog i lateralnog korijenja
5. poticanje razvoja plodova
6. razvoj žilnog tkiva
7. odgađanje starenja i otpadanja lista.

9.1.4.1. Poticanje rasta koleoptile i stabljike te inhibicija rasta korijena

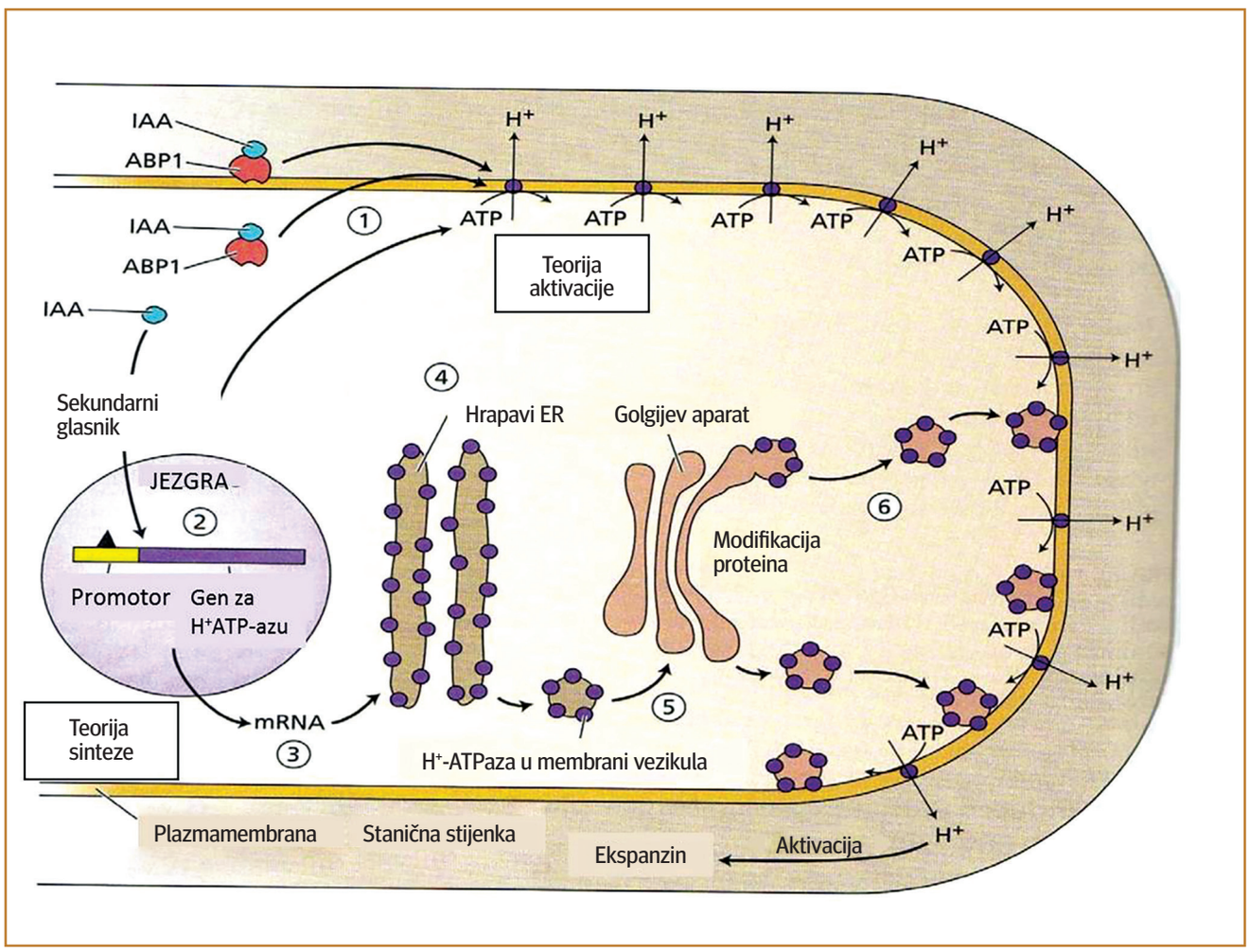
Auksini potiču elongaciju (izduživanje) stanica. Optimalne koncentracije auksina koje potiču izduživanje stanica stabljike i koleoptile iznose 10^{-6} do 10^{-5} M. Koncentracije veće od navedenih najčešće inhibiraju rast stanice uglavnom zbog biosinteze etilena (***poglavlje 9.4.***). Kada su u pitanju stanice korijena, koncentracije auksina od 10^{-10} do 10^{-9} M potiču rast, dok koncentracije od 10^{-6} do 10^{-5} M koče rast korijena. Dakle, koncentracije auksina koje potiču rast nadzemnih organa koče rast korijena, iako je i za rast korijena potrebna određena (mnogo manja) koncentracija auksina.

Auksini vrlo brzo stimuliraju izduživanje stanica (već od 10 do 12 minuta nakon dodavanja auksina u medij za rast, npr. agar).

Kako bismo razumjeli mehanizam kojim auksini omogućuju izduživanje stanice, moramo se prisjetiti procesa uključenih u rast stanice (***poglavlje 8***). U rast biljnih stanica uključena su tri koraka:

1. Usvajanje vode kroz staničnu membranu zbog razlike u vodnom potencijalu (osmoza)
2. Stvaranje turgora kao rezultat pritiska vode (staničnog sadržaja) na staničnu stijenku
3. Biokemijsko omekšavanje stanične stijenke koje omogućuje izduživanje stanice pod utjecajem turgora.

Prema hipotezi **kiselog rasta**, auksini povećavaju rastezljivost (omekšavaju) stanične stijenke jer induciraju izlučivanje H^+ iona iz stanice u apoplast. Zapravo, auksini potiču rad membranskih H^+-ATPaza. Auksini utječu na aktivnost (teorija aktivacije) i na broj (biosinteza tj. teorija sinteze) membranskih H^+-ATPaza (**Slika 9.5.**). Protoni vodika (niski pH) stimuliraju rad **ekspanzina,** proteina koji omekšavaju vodikove veze između ugljikohidrata koji grade staničnu stijenku.



Slika 9.5. Učinak auksina na elongaciju stanice

a) Fototropizam

Kao što je spomenuto u uvodnom dijelu ovog poglavlja, proučavanje fototropizma zapravo je pridonijelo pronalasku auksina. Jednako tako, objašnjeno je da se svjetlosni signal percipira uz pomoć vrha koleoptile, a da do svijanja koleoptile dolazi u tzv. elongacijskoj zoni. Dakle, mjesto percepcije signala i mjesto reakcije na signal fizički su odvojeni. Za prijenos signala od vrha prema elongacijskoj zoni zadužen je auksin.

Kod vertikalnog rasta izboja auksin se prenosi polarno od vegetacijskog vrha prema elongacijskoj zoni. Taj je transport neovisan o gravitaciji i orijentaciji biljke. Međutim, auksin se može transportirati i lateralno, a lateralni transport auksina ključ je tzv. **tropističkih kretanja biljaka** (tropizama).

Prema Cholodny-Wentovu modelu, koleoptila trava ima tri specijalizirane funkcije:

- sinteza auksina
- percepcija svjetlosti (nejednolikog osvjetljenja)
- lateralni transport IAA kao rezultat svjetlosnog signala.

Prema tome, pod utjecajem jednostranog osvjetljenja auksini koji se sintetiziraju u vrhu koleoptile, umjesto da se transportiraju bazipetalno, transportiraju se lateralno prema dijelu koleoptile koji prima manje svjetlosti (zasjenjeni dio).

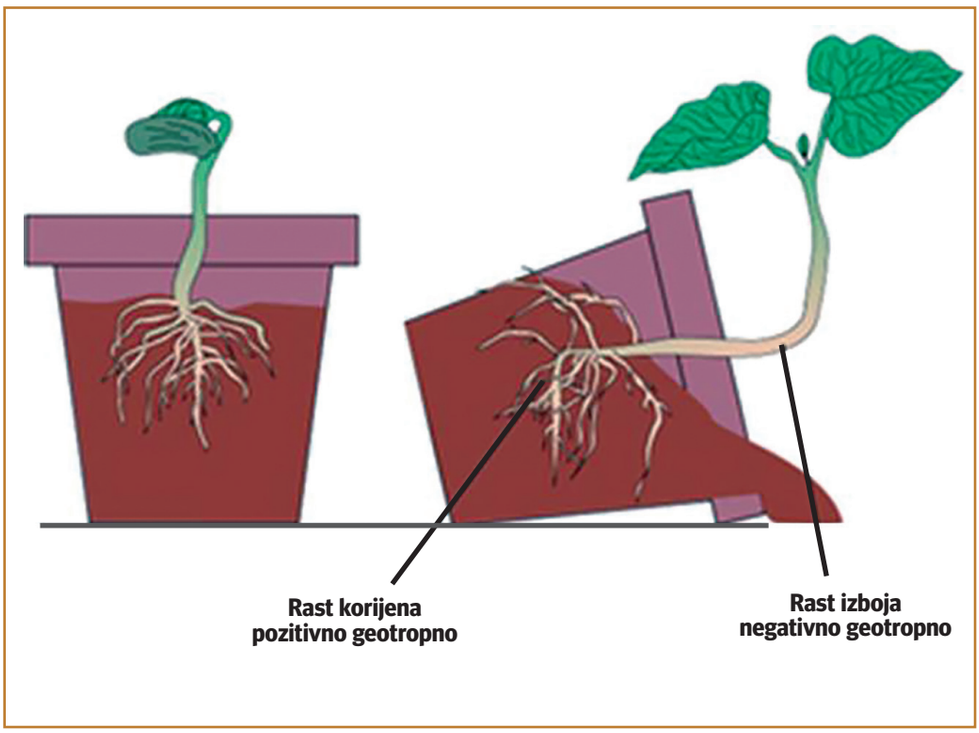
Kada se auksin premjesti lateralno u zasjenjeni dio koleoptile, slijedi njegov bazipetalni transport do zone elongacije.

Zbog bržeg rasta stanica na zasjenjenom dijelu i sporijeg rasta na osvijetljenom dijelu dolazi do savijanja koleoptile prema svjetlosti.

Za percepciju svjetlosti zadužena su dva fotoreceptora, flavoproteina (fototropin 1 i fototropin 2).

b) Geotropizam

Klijanci zobi (*Avena sativa*), koji se u horizontalnom položaju drže u tami (nema svjetlosnog signala koji će izazvati fototropizam), počet će se uspravljati i rasti vertikalno (suprotno gravitaciji), dok će korijen rasti prema izvoru gravitacije (**Slika 9.6.**).



Slika 9.6. Geotropizam kod biljaka

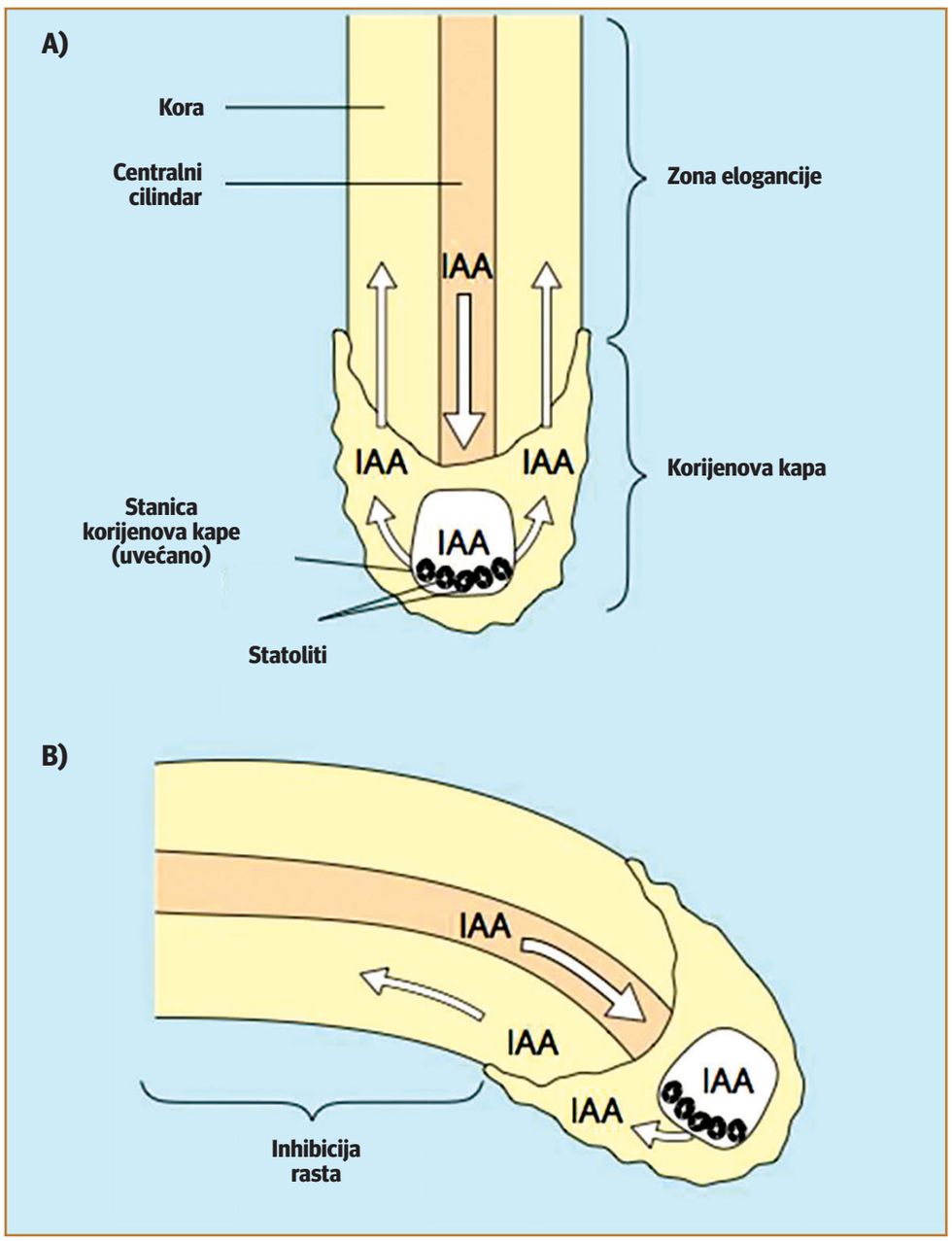
Prema Cholodny-Wentovu modelu, auksin će se u horizontalnoj koleoptili transportirati lateralno prema donjoj strani, gdje će uzrokovati jači rast (izduživanje) stanica u odnosu na gornju stranu koleoptile.

Za razliku od jednostranog osvjetljenja (koje je jače na jednoj strani biljke, a slabije na drugoj), gravitacija djeluje podjednako na sve dijelove biljke. Stoga u percepciji gravitacije u stanici sudjeluju **amiloplasti** velike gustoće**.** Amiloplasti su plastidi koji sadrže velika škrobna zrnca te imaju veću gustoću od ostatka stanice, zbog čega se pod utjecajem gravitacije talože pri bazi stanice (**Slika 9.7.**). Amiloplasti koji u stanicama služe kao senzori gravitacije nazivaju se **statoliti**, a stanice u kojima se odvija percepcija gravitacije su **statocite**.

U izdancima i koleoptilama gravitacija se percipira u slojevima stanica koje okružuje žilno tkivo izboja. Kod korijena se gravitacija percipira u **korijenovoj kapi**. U stanicama korijenove kape (statocitama) nalaze se veliki statoliti. Uklanjanjem korijenove kape može se spriječiti geotropni rast korijena bez inhibiranja samog rasta.

Smatra se da statoliti u statocitama pritišću endoplazmatski retikulum uz bazu stanice. Uz to, pri taloženju prema bazi stanice mijenjaju raspored staničnog skeleta koji će utjecati na smjer rasta stanične stijenke. Slično fototropizmu (percepcija svjetla – vrh koleoptile, a svijanje koleoptile – elongacijska zona), tako je i kod korijena

fizički odvojeno mjesto percepcije gravitacije i mjesto na kojem će doći do reakcije na gravitaciju, odnosno do promjene smjera rasta korijena. Kao što smo naveli, korijenova kapa mjesto je percepcije gravitacije, dok je elongacijska zona korijena mjesto gdje će doći do promjene smjera rasta korijena prema izvoru sile teže. Ponovno, važnu ulogu ima IAA, hormon koji će u ovom slučaju imati inhibitorno djelovanje na rast stanica korijena (**Slika 9.7.**). Suprotno tome, povišene koncentracije IAA potiču rast stanica izdanka.



Slika 9.7. Pozitivni geotropizam korijena. A) vertikalni položaj korijena; statoliti se nalaze na bazi stanica korijenove kape te omogućuju jednakomjernu raspodjelu auksina u zoni elongacije korijena, i B) horizontalni položaj korijena; statoliti se nalaze na bočnoj strani stanica korijenove kape te uvjetuju polarni transport auksina na jednu (donju) stranu, zbog čega se veća koncentracija auksina nalazi na donjoj strani elongacijske zone korijena

9.1.4.2. Apikalna dominacija

Kod većine viših biljaka rastući vegetacijski vrh inhibira rast bočnih (aksilarnih) pupova, a taj se fenomen naziva **apikalna dominacija.** Uklanjanjem vegetacijskog vrha izaziva se rast izboja iz jednog ili više lateralnih pupova. Apikalnu dominaciju kontrolira auksin. Naime, postrani (aksilarni) pupovi osjetljiviji su na auksin od ostalih tkiva izboja. Stoga normalne koncentracije auksina koje potiču rast vegetacijskog vrha inhibiraju rast aksilarnih pupova. Novija istraživanja pokazuju da ova izravna regulacija apikalne dominacije nije zapravo točna te da je riječ o mnogo složenijem procesu. Naime, odstranjivanjem vegetacijskog vrha koncentracija auksina u aksilarnim pupovima zapravo raste. Osim toga, za uspostavu apikalne dominacije potreban je bazipetalan transport auksina, međutim mjerenja, u kojima su upotrebljavani radioaktivni izotopi za označavanje auksina, pokazuju da kod nekih vrsta auksin zapravo uopće ne ulazi u aksilarne pupove, nego se nalazi u ksilemskim elementima u blizini pupova.

Novija istraživanja pokazuju da uz auksine u kontroli apikalne dominacije sudjeluju i drugi hormoni – citokinini (***poglavlje 9.3.***). Nakon odstranjenja vegetacijskog vrha u aksilarnim se pupovima povećava koncentracija citokinina koji se uglavnom sintetiziraju u korijenu i transportiraju u nadzemne dijelove ksilemom. Nadalje, vanjska izravna primjena citokinina na aksilarne pupove aktivira njihov rast i u prisutnosti vegetacijskog vrha, odnosno vršnog pupa (tj. prevladava se inhibitorno djelovanje auksina). Međutim, sam rast aksilarnih pupova brži je u usporedbi s brzinom sinteze i transporta citokinina iz korijena. Smatra se da kod uklanjanja vegetacijskog vrha aksilarni pupovi sintetiziraju vlastite citokinine (detaljnije u ***poglavlju 9.3.***).

Uz to, izgleda da je u regulaciju apikalne dominacije, barem kod nekih biljnih vrsta (ne kod svih), uključena i ABA (apscizinska kiselina). Taj je hormon inhibitor rasta i njegova se koncentracija smanjuje u aksilarnim pupovima nakon uklanjanja vegetacijskog vrha.

Sintetski auksini

Auksini se komercijalno primjenjuju već više od 50 godina. Najčešće se koriste za:

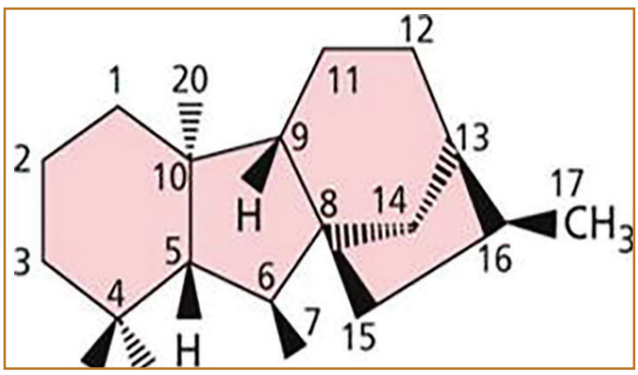
1. ukorjenjivanje reznica – poticanje stvaranja adventivnog korijenja
2. prevenciju otpadanja plodova i listova
3. indukciju **partenokarpije** – pojave plodova bez oplodnje, bez sjemena
4. poticanje cvatnje – npr. kod ananasa
5. kao herbicidi – auksinski herbicidi 2,4-D, MCPA, DICAMBA i dr.

9.2. Giberelini

Giberelini (GA) su velika skupina različitih kemijskih tvari sa sličnom kemijskom strukturom i biološkim učincima. Riječ je o skupini od više od 130 molekula. Biosinteza giberelina pod izravnom je kontrolom genoma biljke, ali je i pod snažnim utjecajem okolišnih čimbenika i razvojne faze biljke. Giberelini su najpoznatiji po svom učinku na porast stabljike i klijanje sjemena.

9.2.1. Pronalazak i kemijska struktura giberelina

Giberelini su pronađeni u istraživanjima vezanim uz bolest riže *bakane.* Ta bolest izaziva izraženi rast biljke riže (visoke stabljike), ali zaražene biljke ne stvaraju sjeme. Fitopatolozi su otkrili da te simptome izaziva kemikalija koju luči gljiva *Gibberella fujikuroi*. Tijekom 1930-ih uzgojem ove gljive u laboratoriju te analizom filtrata japanski su znanstvenici uspjeli izolirati dvije kristalične tvari s hormonskim djelovanjem na biljku, od kojih je jedna nazvana giberelin. Tijekom 1950-ih znanstvenici su uspjeli pročistiti te tvari te ih nazvali giberelinskim kiselinama (GA). Tijekom godina u izolatima dobivenim iz kultura različitih gljiva iz roda *Giberella* utvrđen je veliki broj giberelinskih spojeva koji se označavaju GA_1, GA_2, GA_3 itd. Najčešći giberelin u tim kulturama zapravo je GA_3 te je i najčešći giberelin koji se industrijski proizvodi.



Slika 9.8. *ent*-giberelinski prsten.

Nakon tih otkrića giberelini su postali dostupni znanstvenicima te su započeta istraživanja njihova učinka na biljke. Drastični rezultati dobiveni su kod patuljastih biljaka i biljaka koje stvaraju rozetu, gdje je primjena giberelina izazvala znatan rast stabljika.

Svi giberelini građeni su od tetracikličkog *ent*-giberelinskog kostura (četiri prstena sagrađena od 20 ili 19 C atoma) (**Slika 9.8.**). Prema kemijskom sastavu oni spadaju u **diterpenoide**.

9.2.2. Biosinteza i metabolizam giberelina

Giberelini pripadaju velikoj skupini tetracikličkih diterpenskih kiselina te se sintetiziraju tzv. terpenoidnim putem. Diterpeni su tvari sastavljene od četiri izoprenske jedinice. Sinteza giberelina može se podijeliti na tri faze od kojih se svaka odvija u različitom dijelu stanice.

Prva faza sinteze odvija se u plastidima, pri čemu 4 izoprenoidne jedinice čine linearnu strukturu građenu od 20 C atoma – tzv. geranilgeranil difosfat (GGPP), koji se zatim pretvara u tetraciklički spoj *ent*-kauren.

Druga faza odvija se u ovojnici plastida i endoplazmatskom retikulumu, gdje iz *ent*-kaurena dolazi do postupne sinteze prvog giberelinskog spoja GA_{12}. Do ove faze biosinteza giberelina jednaka je kod svih biljnih vrsta.

U trećoj fazi koja se odvija u citosolu GA_{12} se konvertira u C_{20}-GA, a zatim u oblik C_{19}-GA te u bioaktivni oblik GA_n. Ova se treća faza razlikuje među vrstama, a čak i među pojedinim organima iste vrste ili u različitim okolišnim uvjetima.

Proces sinteze bioaktivnog GA naziva se biosinteza, a kasniji koraci deaktivacije bioaktivnog GA nazivaju se katabolizam.

Giberelini sami reguliraju svoj metabolizam. Kao što smo naveli u prethodnom poglavlju (***poglavlje 9.1.***, Auksini), mnogi čimbenici utječu na homeostazu hormona (biosinteza, konjugacija, razgradnja, transport). Jedan od učinaka GA na biljku jest kočenje biosinteze GA te poticanje njihova katabolizma (inaktivacije) te se tako sprečava pretjerana elongacija stabljike.

Giberelini se sintetiziraju u različitim tkivima, no glavno mjesto njihove sinteze su nezrele sjemenke. Biosinteza giberelina u sjemenci započinje vrlo brzo nakon oplodnje i vrlo je važna za rani rast sjemenke i ploda. Osim u sjemenu, postoje dokazi o biosintezi giberelina u endodermi i kori.

Na biosintezu giberelina velik utjecaj imaju vanjski (okolišni) čimbenici. Giberelini imaju važnu ulogu pri reakciji biljaka na okolišne čimbenike.

Osobito su važni u klijanju sjemena te prijelazu biljke iz vegetativne u generativnu fazu. Primjerice, temperatura i fotoperiod mogu utjecati na koncentracije giberelina tako da aktiviraju gene potrebne za njihovu sintezu.

9.2.3. Fiziološki učinci giberelina

U fiziološke učinke giberelina ubrajaju se:

1. rast stabljike
2. prijelaz iz juvenilne u adultnu fazu
3. pobuđivanje cvatnje i određivanje spola cvijeta
4. razvoj polena i rast polenove mješinice
5. zametanje plodova i partenokarpija
6. poticanje klijanja sjemena žitarica
7. reakcija biljke na duljinu dana – fotoperiodizam.

9.2.3.1. Rast stabljike

GA stimuliraju i diobu i rast stanica. Iako giberelini nemaju dramatični učinak na rast biljaka koje su već „visoke“, oni mogu utjecati na izduživanje internodija, osobito kod trava i biljaka koje stvaraju rozetu, a zatim i cvjetnu stapku (npr. kupus, špinat) (**Slika 9.9.**).

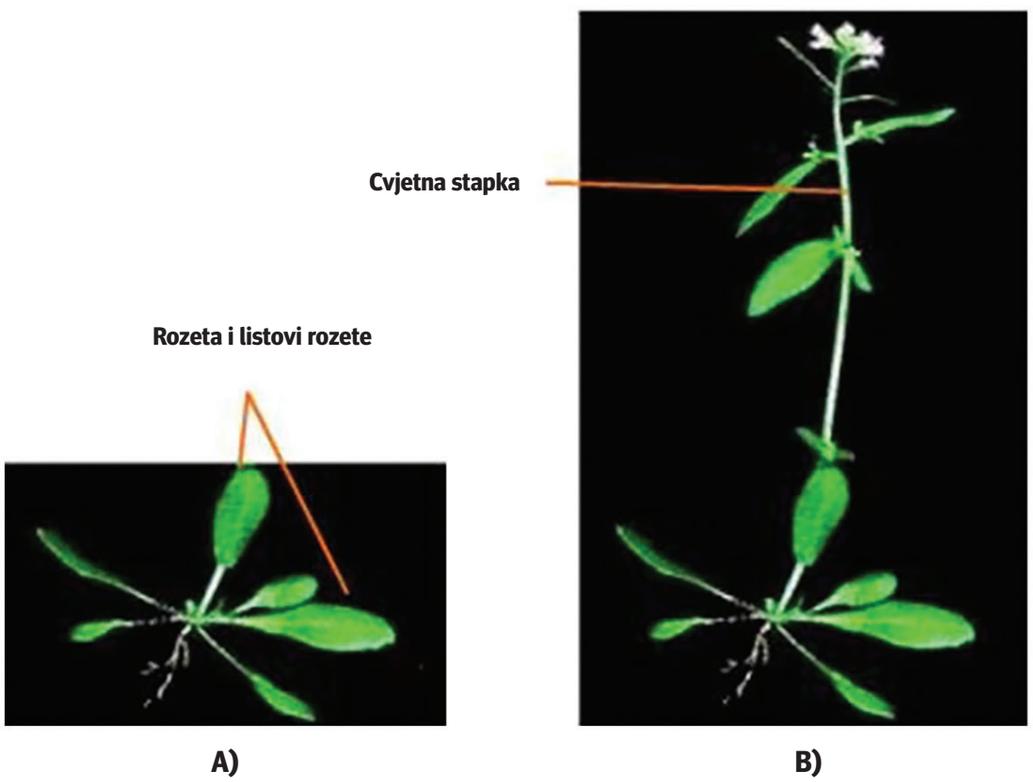
Kod biljaka rozetastog rasta prvi internodiji se u određenim uzgojnim uvjetima ne izdužuju. To je čest slučaj kod biljaka dugog dana koje se uzgajaju u uvjetima kratkog dana. Izduživanje stabljike i stvaranje cvatne osi (stapke) može se stimulirati tretiranjem giberelinima ili izlaganjem uvjetima dugog dana.

Kod trava giberelini utječu na izduživanje internodija jer djeluju na interkalarni meristem.

To je meristemsko tkivo koje se nalazi na bazi internodija i stvara nove stanice iznad samog meristemskog tkiva.

9.2.3.2. Prijelaz iz juvenilne u adultnu fazu

Mnoge drvenaste višegodišnje kulture ne cvatu prije nego što dosegnu određeni stupanj zrelosti. Smatra se da se do te faze nalaze u tzv. juvenilnoj fazi. Kod mnogih četinjača juvenilna faza može trajati više od 20 godina, a može se skratiti tretiranjem giberelinima.



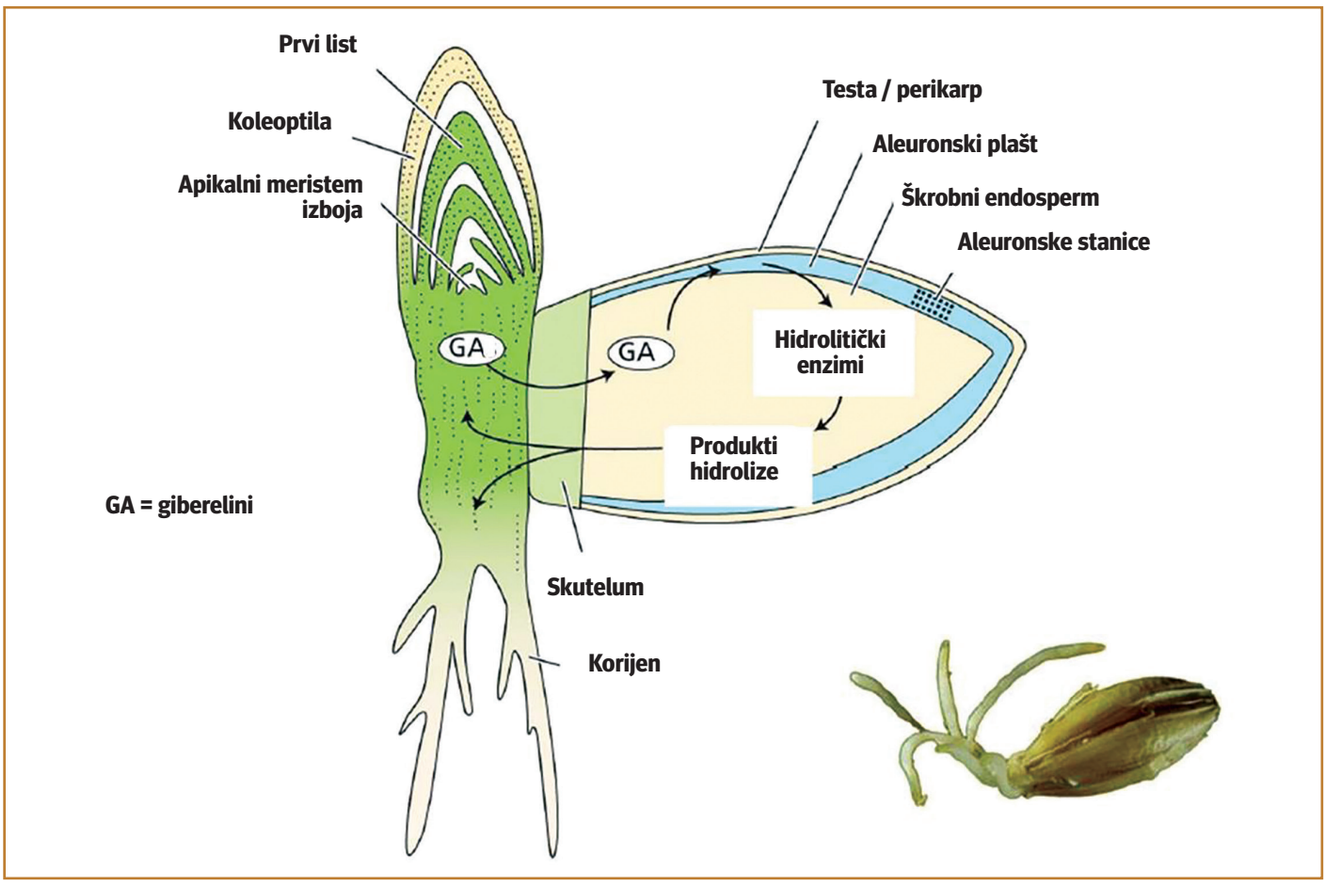
Slika 9.9. Utjecaj giberelina na izduživanje stabljike: A) faza rozete i B) izduživanje cvjetne stapke izazvano tretiranjem giberelinima

9.2.3.3. Pobuđivanje cvatnje i određivanje spola cvijeta

Kao što je već navedeno, GA mogu izazvati pojavu cvatnje osobito kod biljaka dugog dana koje stvaraju rozetu. Kod biljaka s jednospolnim cvjetovima, za razliku od dvospolnih cvjetova, spol cvijeta genetski je određen. Međutim, na spol cvijeta mogu utjecati i okolišni čimbenici poput fotoperiodizma i statusa ishranjenosti biljke, ali i koncentracije GA. No kod različitih biljnih vrsta GA će različito utjecati na spol cvijeta. Npr., kod kukuruza stimulira razvoj ženskih cvjetova, dok kod konoplje, špinata i krastavaca stimulira pojavu muških cvjetova.

9.2.3.4. Klijanje sjemena žitarica

Giberelini reguliraju aktivaciju gena važnih za sintezu α-amilaze. Zrno žitarica može se podijeliti u tri dijela: embrij, endosperm i sjemena ovojnica (sjemenjača, testa ili perikarp). Embrij, iz kojeg će se stvoriti nova biljčica, ima specijalizirani apsorptivni organ koji se naziva skutelum. Endosperm je rezervno tkivo koje se sastoji od dva odvojena tkiva: centralno smješten škrobni endosperm i aleuronski sloj koji ga okružuje (**Slika 9.10.**). U škrobnom endospermu nalaze se stanice s tankom staničnom stijenkom ispunjene škrobnim zrncima. U aleuronskom sloju nalaze se stanice s debelom primarnom staničnom stijenkom i velikim brojem vakuola ispunjenih proteinima (proteinska tijela). Svrha aleuronskog sloja je sinteza i otpuštanje hidrolitičkih enzima u škrobni endosperm tijekom klijanja. Tako se razgrađuju uskladištene tvari, a oslobođeni šećeri, aminokiseline i drugi spojevi služe za rast embrija. Dva enzima zadužena za razgradnju škroba su α-amilaza i β-amilaza. Tijekom klijanja embrij sintetizira GA i otpušta ih u endosperm. GA, koji se sintetizira, potiče diobu i rast stanica samog embrija, ali i aktivira sintezu enzima α-amilaze u aleuronskom sloju. Ovaj enzim vrši hidrolizu škroba do oligosaharida, a zatim ih β-amilaza razgrađuje do disaharida maltoze, koji enzim maltaza razgrađuje do monosaharida glukoze.



Slika 9.10. Aktivacija klijanja sjemena žitarica pod utjecajem giberelina

9.2.3.5. Reakcije biljke na duljinu dana – fotoperiodizam

Giberelini imaju različite uloge u razvoju reproduktivnih organa. Mnoge su biljne vrste osjetljive na duljinu dana (period osvjetljenja), a taj se fenomen naziva **fotoperiodizam**. Većina biljaka može se svrstati u tri glavne skupine: **biljke kratkog dana, biljke dugog dana i dnevno neutralne biljke** (***Poglavlje 8.6.2.***).

Percepcija duljine dana odvija se u listu te se signal prenosi iz lista do vegetacijskog vrha gdje izaziva cvatnju. Interakcija fotoperiodizma i giberelina vrlo je kompleksna. Uglavnom, duljina dana utječe na biosintezu giberelina te je kod nekih biljaka, npr. špinata, za pojavu cvatne stapke potrebna određena koncentracija bioaktivnog giberelina.

9.3. Citokinini

Citokinini su pronađeni kao rezultat istraživanja tvari koje stimuliraju diobu stanica (citokinezu). Nakon njihova otkrića utvrđeno je da su uključeni u regulaciju mnogih fizioloških i razvojnih procesa, poput senescencije, mobilizacije hranjiva, apikalne dominacije, razvoja cvata, klijanja sjemena i prestanka mirovanja pupa. Također su uključeni u mnoge reakcije biljke na svjetlost, poput diferencijacije kloroplasta, rasta kotiledona i lista i sl.

9.3.1. Pronalazak i kemijska struktura citokinina

U pokušajima izazivanja i održavanja *in vitro* stanične diobe korištene su mnoge tvari (od ekstrakta kvasaca do soka rajčice), a ponajbolji rezultati postignuti su kada je korišten tekući endosperm kokosova oraha (tj. kokosovo mlijeko). Korištenjem otopine auksina i 10-20% kokosova mlijeka omogućuje kontinuiranu diobu zrelih (diferenciranih) stanica većine biljnih tkiva, pri čemu nastaje kalus. To je otkriće ukazalo na činjenicu da kokosovo mlijeko sadrži tvari koje stimuliraju ulazak diferenciranih stanica u stanični ciklus. Analizama kokosova mlijeka utvrđeno je da sadrži citokinin **zeatin**, ali to nije bio prvi pronađeni citokinin.

Prvi pronađeni citokinin bio je kinetin (sintetski citokinin). Otkriveno je da uzorak dobiven autoklaviranjem sperme haringe ima vrlo jak utjecaj na diobu stanica duhana, a uzrok tome bila je prisutnost kinetina koji je nastao kao produkt razgradnje molekule DNK pod utjecajem topline. U prisutnosti auksina, kinetin potiče in vitro diobu stanica duhana (bez auksina kinetin nije imao utjecaj na diobu stanica). Pronalazak kinetina ima veliku važnost jer je njime dokazano da jednostavna kemijska tvar može izazvati diobu stanica.

Najčešći prirodni citokinin je **zeatin**. Nekoliko godina nakon otkrića kinetina iz endosperma kukuruza (*Zea mays* L.) izolirana je tvar koja je imala sličan fiziološki učinak na diobu stanica kao i kinetin (u prisutnosti akusina uzrokuje diobu diferenciranih stanica).

Nakon tog otkrića zeatin, ali i drugi citokinini pronađeni su kod mnogih biljnih vrsta i bakterija. Dakle, citokinini su derivati adenina, odnosno aminopurina. Postoje i sintetski citokinini (nisu pronađeni u biljkama), a najpoznatiji su **difenilurea** tipovi citokinina, koji se često koriste kao herbicidi.

Citokininima se smatraju tvari koje imaju djelovanje slično *trans*-zeatinu:

- u prisutnosti auksina izazivaju diobu stanica kalusa
- potiču formiranje pupa ili korijena iz kultura stanica kalusa (uz pravilan omjer s auksinima)
- usporavaju starenje lišća
- potiču rast kotiledona (supki) kod dvosupnica.

Neki biljni patogeni mogu lučiti citokinine ili izazvati biljku da dodatno sintetizira citokinine na mjestima infekcije. To su, primjerice, bakterije *Agrobacterium tumefaciens* – uzročnik raka korijenova vrata (**Slika 9.11.**), *Corynebacterium fascians* (*Rhodococcus fascians*) – uzročnik pojave vještičjih metli, nematode iz roda *Meloydogine* itd.

Slika 9.11. Izraslina na mjestu infekcije bakterijom *Agrobacterium tumefaciens*

9.3.2. Biosinteza, metabolizam i transport citokinina

Bočni lanci (supstituirani na atom N^6 aminopurina) prirodnih citokinina sadrže izoprensku jedinicu ili, rjeđe, aromatski prsten. Prekursor za sintezu izoprenske jedinice je mevalonska kiselina ili piruvat i 3-fosfoglicerat, ovisno o biokemijskom putu biosinteze.

Biljni (ali i bakterijski) enzimi IPT (izopentenil transferaze) kataliziraju prvi poznati korak u biosintezi citokinina, odnosno reakciju adicije izopentenilne grupe na adenozinsku bazu. Izoprenska jedinica nalazi se u obliku DMAPP (dimetilalil difosfat). Biljni enzimi IPT kao supstrat koriste ADP i ATP, a bakterijski AMP te nastaju iPMP (izopenteniladenozin-5-monofosfat), iPDP ili iPTP koji se transformiraju u zeatin uz pomoć još nepoznate hidrolaze. *Trans*-zeatin koji nastaje može se dalje metabolizirati na različite načine. Osim opisanog puta, izopentenilna grupa DMAPP može se vezati na adenin nekog od tRNK (enzim koji katalizira ovu reakciju naziva se tRNK-IPT).

Glavno mjesto sinteze citokinina je korijenov **vegetacijski vrh** te se citokinini nastali u korijenu ksilemom transportiraju u nadzemne dijelove.

Međutim, korijen nije jedino mjesto sinteze citokinina. Primjerice, citokinini se mogu sintetizirati u mladim embrijima sjemenki, kao i mladom lišću i mladim plodovima.

Citokinini se vrlo brzo razgrađuju u biljnim tkivima. Mnoga biljna tkiva sadrže enzim citokinin oksidazu koja uklanja bočni lanac sa zeatina (bez obzira *cis*- ili *trans*-) i njegovih derivata te tako ireverzibilno inaktivira citokinine.

Osim razgradnje, aktivnost citokinina regulira se konjugacijom. Atomi dušika na 3., 7. i 9. poziciji purinskog prstena (adenina) mogu se konjugirati s glukozom ili ksilulozom. Iz tih konjugiranih formi, citokinini se mogu aktivirati – oslobađa se spoj uz pomoć kojeg su konjugirani i ponovno se javljaju kao čisti (aktivni) citokinini.

9.3.3. Fiziološki učinci citokinina

Iako su pronađeni kao čimbenici koji stimuliraju diobu stanica, citokinini mogu poticati ili kočiti niz fizioloških funkcija u biljci (npr. diferencijacija, apikalna dominacija, senescencija i dr.).

9.3.3.1. Učinak na diobu stanica

Biljne stanice nastaju diobom meristemskih stanica (primarnih ili sekundarnih meristema). Novostvorene biljne stanice zatim rastu i diferenciraju se. Nakon što postignu svoju funkciju (bilo da je riječ o transportu, fotosintezi, skladištenju, mehaničkim stanicama), one gube mogućnost diobe i kao takve su slične životinjskim stanicama. No ta je sličnost samo površna. Gotovo se sve biljne stanice, koje zadrže jezgru, u svojoj zrelosti mogu i dijeliti. Taj je proces osobito vidljiv pri ozljeđivanju biljaka. Kod ozljeda privremeno će se aktivirati dioba stanica uz ozljedu, a već nakon nekoliko ciklusa diobe doći će do rediferencijacije takvih stanica. S druge strane, pri zarazi patogenom *Agrobacterium tumefaciens* dolazi do neprekinute diobe stanica, što rezultira nastankom tumora.

Biljna tkiva i organi mogu se uzgajati *in vitro*. Još je 1930-ih primijećeno da korijen rajčice može rasti u jednostavnom mediju koji sadrži samo malu koncentraciju saharoze, vitamina i minerala.

No za razliku od korijena, nadzemni organi ne rastu u takvim *in vitro* uvjetima, čak ni uz dodatak hormona poput auksina. Ako se ipak javi rast nadzemnih organa pod utjecajem auksina, vrlo je ograničen (kratak) i pojavljuje se samo zbog rasta stanica (ne i zbog diobe). Nadzemna tkiva neće rasti u uvjetima *in vitro* u jednostavnim medijima (mediji bez hormona) čak i ako sadrže apikalni meristem. Tek kada takva tkiva razviju adventivno korijenje, dolazi do njihova rasta. Ova pojava upućuje na činjenicu da postoji razlika u regulaciji diobe stanica korijena i nadzemnih organa. Osim toga, ukazuje na to da neki spojevi, koji nastaju u korijenu (citokinini), potiču razvoj stabljike (nadzemnih organa).

Za razliku od opisanih pojava, pri zarazi bakterijom *Agrobacterium tumefaciens* iz tumorskih se stanica toplinskim tretmanima mogu ukloniti bakterije. Zagrijavanje tkiva na temperaturu iznad 42 °C ubija bakteriju koja izaziva tumor. Biljka preživljava taj toplinski tretman, no tumor nastavlja rasti čak i bez prisutnosti bakterije, a uzme li se uzorak takvog tumora, on nastavlja rasti *in vitro* na jednostavnim hranjivim podlogama (podloge bez hormona, odnosno podloge na kojima nadzemni biljni dijelovi inače ne rastu).

Međutim, tumorske stanice koje se tako dijele ne diferenciraju se, nego predstavljaju masu nediferenciranih stanica, tzv. **kalus**.

Pri uzgoju *in vitro* stanice kalusa mogu se diferencirati u korijen ili nadzemni dio biljke ovisno o razini (koncentraciji) auksina i citokinina u mediju. Kod visokih koncentracija auksina, a niskih koncentracija citokinina dolazi do razvoja korijena, dok kod niske koncentracije auksina, a visoke koncentracije citokinina dolazi do razvoja izdanka (nadzemnih organa). Pri njihovim podjednakim koncentracijama nastavlja se razvijati kalus.

Citokinini reguliraju diobu stanica tako da utječu na stanični ciklus. Inhibicija biosinteze citokinina blokira diobu stanica, a ako se primijene egzogeni citokinini, stanična dioba se nastavlja. Aktivnost citokinina u staničnom ciklusu utvrđena je u prisutnosti optimalnih koncentracija auksina.

Oba ta hormona reguliraju stanični ciklus tako da reguliraju aktivnost specifičnih proteinskih kinaza (CDK cyclin-dependent protein kinase) koje reguliraju stanični ciklus eukariota. Auksini potiču sintezu nekih od ovih enzima (ali su nakon sinteze neaktivni), dok citokinini potiču njihovu aktivnost (uklanjaju inhibitornu fosfatnu grupu s dotičnih kinaza). Citokinini uglavnom reguliraju stanični ciklus na kraju S faze, prelaska G2 u M fazu i u kasnoj G1 fazi.

9.3.3.2. Učinak na apikalnu dominaciju

Biljke s izraženom apikalnom dominacijom (npr. kukuruz) imaju jednu rastuću os (te eventualno nekoliko bočnih ogranaka), dok grmolike biljke tjeraju velik broj bočnih ogranaka. Grananje je regulirano genotipom, svjetlošću i ishranom, ali može biti stimulirano uklanjanjem vršnog pupa. Apikalna dominacija regulirana je složenim odnosom auksina, citokinina i još nepoznatim signalima iz korijena. Auksini koji se polarno transportiraju iz vršnog pupa inhibiraju rast bočnih pupova. S druge strane, izravna (egzogena) primjena citokinina stimulira rast postranih pupova. Smatra se da se citokinini, koji stimuliraju rast postranih pupova, sintetiziraju u njima, a ne u korijenu te da auksini inhibiraju ekspresiju gena važnih za sintezu citokinina.

9.3.3.3. Usporavanje senescencije lišća

Listovi koji se odvoje od biljke polagano gube klorofil, molekule RNK, lipide i proteine, čak i ako se nalaze u vlažnim uvjetima i opskrbljuje ih se mineralnim tvarima. Takvo programirano starenje lišća koje završava smrću naziva se **senescencija**. Senescencija je brža u mraku nego na svjetlu, a tretiranje takvog lišća citokininima usporava taj proces. Iako citokinini ne sprečavaju senescenciju, njihov učinak može biti vrlo izražen. Ako se jedan list odrezane biljke tretira citokininima, on će ostati zelen i pričvršćen na biljku nakon što svi ostali listovi otpadnu. Za razliku od mladog lišća, staro lišće proizvodi vrlo malo citokinina, stoga ovisi o opskrbi citokininima koji nastaju u korijenu. Primjerice, kod soje se senescencija lista inducira dozrijevanjem sjemena (pojava koja se naziva monokarpna senescencija) i može se odgoditi uklanjanjem sjemena.

9.3.3.4. Učinak na pokretljivost hranjiva

Citokinini potiču transport hranjiva iz različitih biljnih dijelova u lišće – tzv. citokininima uvjetovana mobilizacija hranjiva. Tretiranjem lišća citokininima izaziva se transport hranjiva u takvo lišće. Smatra se da citokinini mijenjaju odnose izvor-izljev i tako potiču transport hranjiva floemom. S druge strane, koncentracije citokinina u biljnim tkivima ovise o ishranjenosti tih tkiva mineralnim hranjivima. Tako koncentracije hranjiva određuju koncentraciju citokinina, a odnos citokinina i auksina određuje hoće li na biljci doći do pojačanog rasta korijena ili izdanka. Kod slabije opskrbljenosti biljke hranjivima, manja je i koncentracija citokinina u izdanku, što utječe na pojačani rast korijena, koji će bolje usvajati hranjiva. Obrnuto, kod dobre opskrbe hranjivima, koncentracija citokinina u biljci je visoka, pa će se jače razvijati nadzemni dio biljke. Takve biljke imaju veću lisnu površinu, a time i veću stopu sinteze organskih spojeva.

9.3.3.5. Učinak na razvoj kloroplasta

Iako sjeme može klijati u mraku, morfologija biljaka koje se razvijaju u mraku vrlo je različita od onih koje se razvijaju na svjetlosti. Klijanci koji se razvijaju u mraku su **etiolirani**. Etiolirane biljke imaju izduženi hipokotil i internodije, kotiledoni i lišće slabo se razvijaju, a kloroplasti ne sazrijevaju (ostaju u obliku etioplasta). Kod biljaka koje rastu na svjetlu kloroplasti se razvijaju izravno iz proplastida. No kloroplasti se mogu razviti i iz etioplasta. Međutim, ako se etiolirane biljke tretiraju citokininima (prije nego što se izlože svjetlosti), one nakon izlaganja svjetlosti stvaraju kloroplaste s izraženijim grana tilakoidima. To pokazuje da citokinini zajedno sa svjetlom i drugim čimbenicima utječu na razgradnju prolamelarnog tijela etioplasta i razvoj tilakoidnih membrana, biosintezu fotosintetskih pigmenata te proteina regulacijom ekspresije plastidnih i jezgrinih gena.

9.3.3.6. Učinak na rast stanica u kotiledonima i lišću

Citokinini potiču rast kotiledona i lišća (rast stanica), osobito kod dikotiledona poput krastavca i suncokreta. Mehanizam nije poznat.

9.4. Etilen

Tijekom 19. st. za potrebe ulične rasvjete korišten je zemni plin. Tada je uočeno da drveće u blizini uličnih svjetiljki brže odbacuje lišće od drveća koje je udaljeno od njih. Poslije je otkriveno da sagorijevanjem zemnog plina nastaje etilen, biljni plinoviti hormon.

Početkom 20. st. primijećeno je da pri klijanju klijanca graška u laboratorijskim uvjetima u tami dolazi do takozvanog trostrukog odgovora klijanaca: smanjena elongacija (produžni rast) stabljike, pojačan rast u širinu (zadebljanje) i abnormalni horizontalni rast (ageotropizam). Kad su takve biljke iznesene na atmosferu bez etilena, počele su normalno rasti. Dimitry Neljubow otkrio je da se u ugljenom grijanom laboratoriju nalazi plin etilen.

Osim što može biti produkt izgaranja fosilnih goriva, etilen može biti i prirodni produkt metabolizma biljaka, a zbog važnog utjecaja na rast i razvoj biljaka svrstan je među biljne hormone.

9.4.1. Biosinteza, metabolizam i struktura etilena

Etilen može nastati u gotovo svim biljnim dijelovima, a količina koja nastaje ovisi o tipu tkiva i razvojnoj fazi. Sinteza etilena pojačava se pri starenju organa: starenju cvata, sazrijevanju ploda i otpadanju lišća. Njegovu biosintezu potiče ozljeđivanje tkiva te različiti stresni uvjeti (suša, poplava, temperatura).

Prekursor za biosintezu etilena je aminokiselina **metionin**, a međuprodukt biosinteze etilena iz metionina je ACC (1-aminociklopropan-1-karboksilna kiselina), iz kojeg će oksidacijom nastati etilen.

Sintezu ACC-a iz metionina katalizira enzim ACC sintaza, a koncentracija ovog enzima izrazito je ovisna o vanjskim i unutarnjim čimbenicima, kao što su ozljede, razina auksina, suša, poplave. Zadnji korak biosinteze etilena katalizira ACC oksidaza koja oksidira ACC do etilena ($H_2C=CH_2$).

Etilen je plin vrlo jednostavne strukture, lakši je od zraka, zapaljiv je i vrlo brzo podliježe oksidaciji. U većini biljnih tkiva etilen oksidira do CO_2.

Osim oksidacijske razgradnje, biljka regulira aktivnost etilena konjugacijom, i to na razini ACC-a koji može biti konjugiran u obliku *N malonil*-ACC koji se akumulira u tkivu (posebice u vakuoli).

Sintezu etilena potiču:
- dozrijevanje plodova
- okolišni stresni uvjeti
- ranjavanje tkiva
- auksini.

Etilen je fiziološki aktivan već pri vrlo niskim koncentracijama (1 nL L^{-1}). Zbog toga što kao plin jako lako difundira iz tkiva u kojem je nastao i time može znatno utjecati na ostala tkiva, etilen se mora uklanjati pri čuvanju (skladištenju) voća, povrća i cvijeća.

9.4.2. Fiziološki učinci etilena

9.4.2.1. Učinak na dozrijevanje plodova

Dozrijevanje plodova u svakodnevnom životu predstavlja procese koji čine plodove jestivima (zrelim za konzumaciju). Takve promjene najčešće uključuju omekšavanje izazvano razgradnjom staničnih stijenki, hidrolizu škroba, nagomilavanje šećera i razgradnju organskih kiselina i fenolnih spojeva (uključujući tanine). Iz perspektive biljke, dozrijevanje plodova zapravo obilježava završetak razvoja sjemena koje je tada spremno za širenje.

Izlaganjem plodova etilenu ubrzava se njihovo dozrijevanje. No istraživanja su pokazala da svi plodovi ne reagiraju jednako na povišene koncentracije etilena.

Plodovi kojima etilen potiče dozrijevanje pokazuju specifični porast intenziteta disanja prije same faze dozrijevanja, a nazivaju se **klimakterijski** plodovi. Kod takvih plodova prije početka dozrijevanja i povećanja intenziteta disanja dolazi do povećane sinteze etilena. S druge strane, postoje plodovi koji tijekom dozrijevanja ne povećavaju sintezu etilena kao ni intenzitet disanja te se oni nazivaju **neklimakterijski** plodovi.

Popis klimakterijskih i neklimakterijskih plodova naveden je u **tablici 9.1.**

Klimakterijski	Neklimakterijski
Jabuka	Agrumi
Banana	Trešnja
Kruška	Lubenica
Breskva	Jagoda
Smokva	Grožđe
Maslina	Ananas
Šljiva	Mahune
Rajčica	
Avokado	

Tablica 9.1. Neki klimakterijski i neklimakterijski plodovi

Kod klimakterijskih plodova tretiranje etilenom (egzogeno) potiče tkivo ploda na dodatnu sintezu endogenog etilena, tzv. autokatalizu, što dovodi do ubrzavanja procesa dozrijevanja.

Kod neklimakterijskih plodova, tretiranje etilenom povećava intenzitet disanja, ali ne dolazi do povećanja sinteze etilena u tkivu te ne dolazi do ubrzavanja dozrijevanja.

Spoznaja da etilen ubrzava dozrijevanje klimakterijskih plodova ima veliku komercijalnu primjenu. Stoga se u praksi primjenjuju preparati djelovanja sličnog etilenu koji ubrzavaju i ujednačavaju dozrijevanje plodova te tvari koje inhibiraju sintezu etilena, poput aminoetoksivinilglicina (AVG), ili blokiraju receptore za etilen, poput srebra (Ag^+) i 1-metil ciklopropen (MCP), koje usporavaju, pa čak i zaustavljaju dozrijevanje.

9.4.2.2. Epinastija listova

Epinastija listova je pojava svijanja listova prema dolje koja se javlja zbog bržeg rasta gornje strane peteljke u odnosu na donju stranu. Etilen zajedno s visokim koncentracijama auksina potiče epinastiju listova.

Točnije, danas je poznato da visoke koncentracije auksina potiču ovu pojavu indirektno, time što potiču sintezu etilena. Epinastiju listova potiče i niz stresnih uvjeta, npr. infekcija patogenima, solni stres, poplave (anoksija i hipoksija korijena) i sl., zbog toga što potiču sintezu etilena.

Za sada nije poznata fiziološka funkcija ove pojave.

9.4.2.3. Učinak na lateralnu ekspanziju

Pri koncentracijama višim od 0,1 μL L^{-1} etilen mijenja rast klijanaca tako da smanjuje izduživanje stanica, a potiče njihovu lateralnu (postranu) ekspanziju.

Trostruki odgovor klijanaca sastoji se od inhibicije izduživanja i zadebljanja hipokotila, inhibicije rasta korijena i inhibicije otvaranja hipokotilne kuke (**Slika 9.12.**).

Kao što smo objasnili u poglavlju 8., smjer rasta stanica uvjetovan je položajem celuloznih mikrofibrila u staničnim stijenkama.

Transverzalni mikrofibrili povećavaju čvrstoću staničnih stijenki u lateralnom smjeru, stoga povećanje turgora uzrokuje izduživanje stanica. Smjer i položaj mikrofibrila u staničnim stijenkama određen je položajem i smjerom mikrotubula u perifernom dijelu citoplazme. Kod tipičnih biljnih stanica koje se izdužuju mikrotubuli su poredani transverzalno, što omogućuje transverzalni položaj mikrofibrila u staničnim stijenkama u odnosu na smjer rasta stanica.

Tijekom **trostrukog odgovora klijanaca** koji se javlja u fazi klijanja sjemena dolazi do poremećaja transverzalnog položaja mikrotubula u citoplazmi.

Naime, mikrotubuli se okreću za 90º i zauzimaju longitudinalni (uzdužni) položaj. Promjena položaja mikrotubula izaziva promjenu položaja mikrofibrila u novosintetiziranim staničnim stijenkama, a longitudinalni položaj mikrofibrila onemogućuje elongacijski rast (izduživanje stanica), nego potiče lateralni rast, odnosno debljanje stanice.

9.4.2.4. Učinak na otvaranje hipokotilne kuke

Hipokotilnu kuku spominjali smo i u kontekstu trostrukog odgovora. Međutim, tijekom klijanja razvija je i većina dikotiledona. Hipokotilna kuka je svijanje hipokotila upravo ispod vegetacijskog vrha klijanca (**Slika 9.12.**). Ona olakšava prodiranje klijanca kroz tlo i zapravo štiti nježni vegetacijski vrh (apikalni meristem).

Poput epinastije, hipokotilna kuka nastaje zbog asimetričnog rasta vegetacijskog vrha klijanca koju izaziva etilen.

Kuka nastaje zbog brže elongacije stanica s vanjske strane mlade stabljike u odnosu na unutarnje stanice. Nakon nicanja (izloženost svjetlosti) kuka se otvara, odnosno dolazi do ispravljanja biljčice.

Slika 9.12. Trostruki odgovor klijanaca na etilen (bez etilena – lijevo; tretman etilenom – desno): zadebljanje hipokotila, redukcija rasta korijena i inhibicija otvaranja hipokotilne kuke

9.4.2.5. Prekidanje dormantnosti sjemena i pupova

Kod nekih biljnih vrsta etilen prekida dormantnost sjemena (npr. sjeme žitarica) i pupova (npr. pupovi gomolja krumpira).

9.4.2.6. Utjecaj na razvoj korijena i korijenovih dlačica

Etilen može potaknuti formiranje adventivnog korijenja iz vegetativnih dijelova biljke. Također, etilen potiče razvoj korijenovih dlačica.

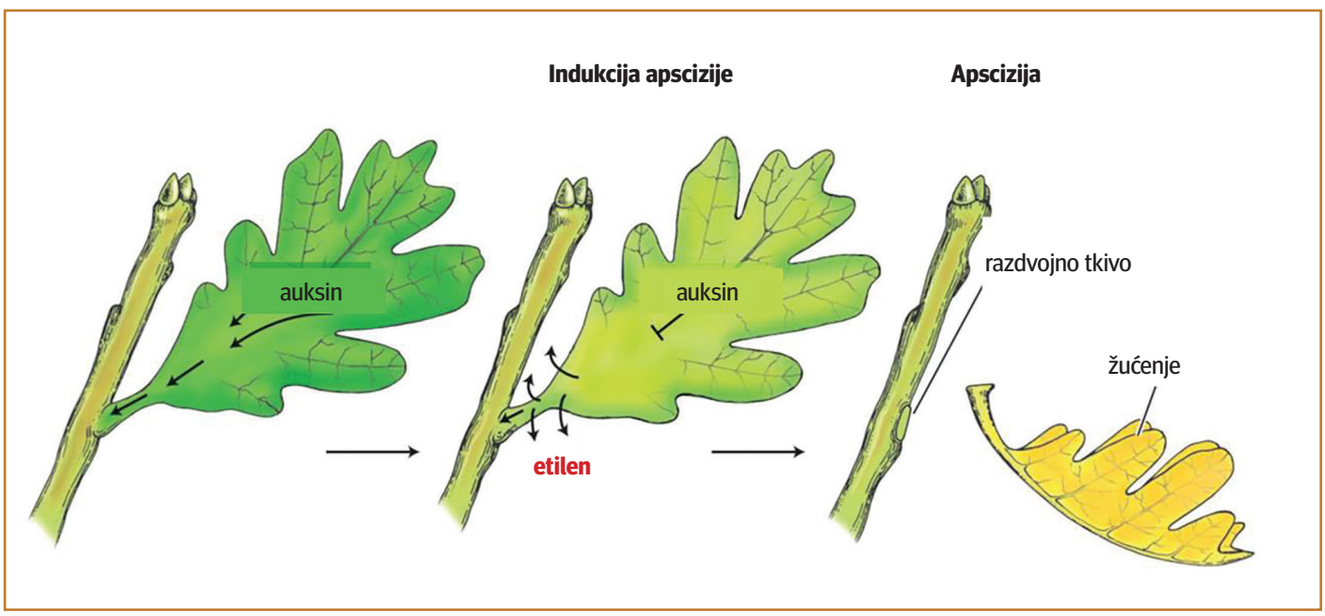
9.4.2.7. Učinak na senescenciju (starenje) lista

Senescencija je genetski programiran razvojni stadij starenja biljnog tkiva, organa i/ili čitavog organizma. Senescenciju listova kontroliraju citokinini i etilen. Etilen ubrzava senescenciju biljnih tkiva i organa.

9.4.2.8. Regulacija apscizije

Venuće i odbacivanje listova, plodova i drugih biljnih organa naziva se **apscizija**. Apscizija se javlja u specifičnim slojevima staničja koji se nazivaju **rastavni slojevi**. U rastavnim slojevima dolazi do razgradnje staničnih stijenki, što ovisi o aktivnosti enzima koji razgrađuju njihove sastojke (celulaze i poligalaktouronaze). U tom je procesu etilen glavni regulator aktivnosti enzima, dok auksin djeluje kao supresor učinka etilena. Međutim, previsoke koncentracije auksina izazivaju sintezu etilena te mogu također ubrzati proces apscizije. Proces apscizije prikazan je **slikom 9.13.**, a odvija se u tri faze.

1. Faza zadržavanja listova – visoka koncentracija auksina, koji se prenosi iz plojke lista prema peteljci, sprečava apsciziju (djelovanje etilena)
2. Indukcija faze otpadanja – smanjenje sinteze auksina u listu povećava osjetljivost rastavnog sloja tkiva na učinke etilena
3. Faza otpadanja – dolazi do sinteze enzima koji razgrađuju stanične stijenke, zbog čega dolazi do razdvajanja stanica i otpadanja (apscizije) lista.



Slika 9.13. Faze apscizije lista

9.4.3. Komercijalna upotreba etilena

Budući da etilen regulira velik broj fizioloških procesa, njegova je komercijalna primjena vrlo raširena. S druge strane, zbog njegove plinovite prirode i brze difuzije primjena u polju je zahtjevna.

Stoga se primjenjuju tvari koje modificiraju djelovanje etilena, npr. Etephon, Ethrel i SmartFresh (kod uskladištenih proizvoda).

Etephon i Ethrel koriste se za tretiranje biljaka (plodova i dr.) te ih biljka brzo usvaja i transportira, a zatim se u njoj transformiraju u etilen. Koriste se za ubrzavanje dozrijevanja jabuka i rajčica te sinkronizaciju cvatnje i dozrijevanja ananasa, povećanje obojenja (žućenja) agruma i dr. SmartFresh kao djelatnu tvar sadrži 1-MCP (1-metil ciklopropen), koji blokira djelovanje etilena i tako sprečava sazrijevanje plodova.

S druge strane, mnoga moderna skladišta posjeduju tehnologiju smanjenja stvaranja etilena kako bi što dulje održala plodove u svježem stanju.

Takva skladišta imaju kontroliranu temperaturu (niske temperature smanjuju sintezu etilena), smanjenu koncentraciju O_2, a povećanu koncentraciju CO_2 (3-5%), što smanjuje učinke etilena. Koristi se niski tlak (vakuum) kako bi se uklonili etilen i kisik iz skladišta itd.

9.5. Apscizinska kiselina (ABA)

Rast i razvoj biljke pod kontrolom su stimulirajućih i inhibirajućih signala. Prvi pokušaji izolacije biljnih inhibitora rasta bazirali su se na izolaciji spojeva iz lišća neposredno prije otpadanja (u jesen kada biljka ulazi u fazu mirovanja – dormantnosti). U jednom takvom istraživanju izolirana je tvar nazvana dormin.

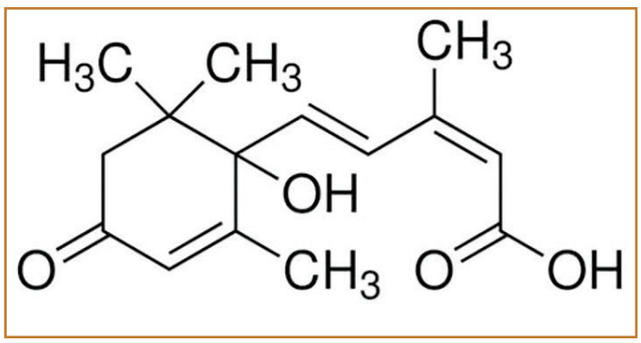
Ubrzo je ustanovljeno da je dormin kemijski identičan spoju koji izaziva otpadanje (apsciziju) plodova pamuka te je ova tvar nazvana apscizin, odnosno **apscizinska kiselina (ABA)**. Poslije je utvrđeno da do otpadanja plodova pamuka dolazi zbog djelovanja etilena, a ABA kod pamuka potiče sintezu etilena.

Kasnijim istraživanjima utvrđene su mnoge fiziološke funkcije ABA-e.

9.5.1. Biosinteza, metabolizam i struktura apscizinske kiseline

Unutar biljnog organizma ABA je pronađena u svim tkivima i organima. ABA se sintetizira u svim stanicama koje sadrže plastide (kloroplaste ili amiloplaste).

Fiziološka aktivnost ABA-e proizlazi iz njene kemijske strukture (**Slika 9.14.**) te bilo kakva promjena kemijske strukture ABA-e rezultira gubitkom hormonske aktivnosti.



Slika 9.14. Kemijska struktura apscizinske kiseline

Kao i kod ostalih biljnih hormona, reakcije tkiva ovise o njenoj koncentraciji i osjetljivosti samog tkiva na njeno djelovanje. Procesi poput biosinteze, razgradnje, konjugacije, transporta i kompartmentalizacija kao i kod drugih hormona imaju ulogu u regulaciji koncentracije ABA-e.

Biosinteza ABA-e odvija se u kloroplastu i drugim plastidima, tzv. terpenoidnim putem. Prekursor biosinteze ABA-e je **izopentenil difosfat (IPP),** spoj koji je prekursor u sintezi **karotenoida**.

Koncentracija ABA-e u biljnim tkivima može znatno varirati, ovisno o razvojnoj fazi biljke, ali i pod utjecajem okolišnih čimbenika. Primjerice, u uvjetima vodnog stresa za samo 4-8 h koncentracija ABA-e u listu može se povećati za 50 i više puta, a nakon zalijevanja biljke, njena se koncentracija ponovno vrlo brzo vraća u normalu.

Pri vodnom stresu koncentracija ABA-e poveća se zbog pojačane sinteze, ali i redistribucije unutar stanica mezofila lista, transporta iz korijena te recirkulacije iz drugih listova. Nakon navodnjavanja, njena se koncentracija smanji zbog smanjenja sinteze i povećanja razgradnje te transporta iz lista.

Inaktivacija ABA-e postiže se njenom konjugacijom i oksidacijom.

Konjugirani oblik ABA-e skladišti se u vakuoli gdje djeluje kao rezerva tog hormona.

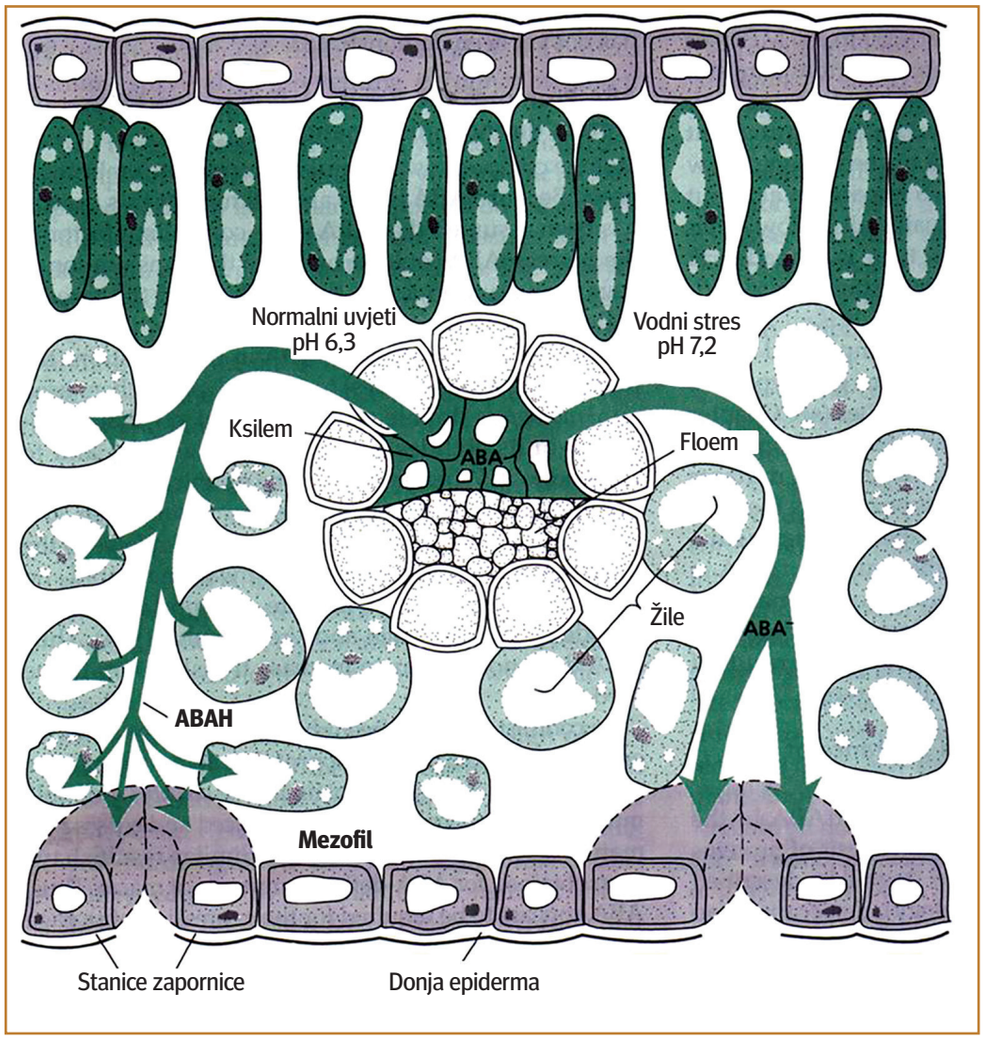
ABA se u biljci transportira i ksilemom i floemom. Osobito visoke koncentracije ABA-e u ksilemu mogu se naći u sušnim uvjetima.

U takvim uvjetima ABA se pojačano sintetizira u korijenu. Smatra se da je ABA signal koji korijen šalje u nadzemne dijelove u uvjetima suše, kako bi biljka pritvorila puči i tako štedjela vodu.

Tijekom rane faze nedostatka vode pH vrijednost ksilema postaje viša (s pH 6,3 na pH 7,2). Rast pH vrijednosti ksilema i apoplasta uzrokuje disocijaciju ABA-e (ABA^-). Osnovna kontrola distribucije ABA-e u stanici i tkivima prati koncept tzv. „anionske zamke“. Anionski oblik ABA-e (ABA^-) nakuplja se na mjestima s višom pH vrijednošću, a njegova redistribucija između stanica ovisi o gradijentima pH (razlikama pH vrijednosti poprijeko membrane).

Anion ABA-e ne može pasivnim putem prijeći staničnu membranu pa ne ulazi u stanice mezofila lista te se stoga njena koncentracija povećava u ksilemskom toku.

Tako veća koncentracija ABA-e dolazi do stanica zapornica puči (**Slika 9.15.**).



Slika 9.15. Pritvaranje puči pod utjecajem ABA-e. Redistribucija ABA-e u listu rezultat je povišenja pH vrijednosti ksilema u uvjetima stresa zbog nedostatka vode

9.5.2. Fiziološki učinci apscizinske kiseline

ABA ima ključnu ulogu u regulaciji dormantnosti sjemena i pupova te reakcijama biljaka na stres, posebice vodni stres. No ABA utječe i na mnoge razvojne procese, obično kao antagonist auksinima, citokininima, giberelinima i etilenu.

9.5.2.1. Učinak na dozrijevanje sjemena

Razvoj sjemena može se podijeliti u tri faze podjednake duljine trajanja.

1. faza – karakterizira je dioba stanica i diferencijacija tkiva. Dolazi do embriogeneze i rasta endosperma
2. faza – usporava se dioba stanica, a dolazi do nakupljanja rezervnih tvari
3. faza – embrij postaje otporan na isušivanje (desikaciju) , a sjeme gubi i do 90 % vode. Kao posljedica gubitka vode sjeme ulazi u fazu mirovanja. U nekim slučajevima sjeme postaje dormantno. Sjeme koje je u fazi mirovanja proklijat će nakon rehidracije. Za razliku od toga, sjeme koje je dormantno neće klijati ni u uvjetima povoljnim za klijanje.

Koncentracija ABA-e tijekom razvoja sjemena se mijenja. U početku (embriogeneza) koncentracija ABA-e vrlo je niska, a zatim raste i najviša je pri završetku embriogeneze te joj se koncentracija ponovno smanjuje kako sjeme dozrijeva.

9.5.2.2. ABA povećava otpornost embrija na isušivanje i povećava kapacitet za skladištenje

Tijekom razvoja sjemena ABA potiče sintezu proteina koji povećavaju tolerantnost embrija na isušivanje. Osim toga, od sredine do kraja embriogeneze, kada su koncentracije ABA-e u sjemenu najveće, ona potiče akumulaciju rezervnih tvari u sjemenu, što je važno za razvoj mlade biljke pri klijanju.

9.5.2.3. Učinak na preuranjeno klijanje i viviparij

Ako se nedozreli embrij ukloni iz sjemena i stavi u povoljne uvjete hranjivog medija, on počinje rasti, tj. preuranjeno klijati. Razlog tome je što embrij nije završio svoj normalni razvoj i ušao u stanje mirovanja ili dormantnosti. Ako se u hranjivi medij doda ABA, takav embrij ne raste (ne klija).

Ta činjenica upućuje na to da je ABA prirodni faktor koji sprečava preuranjeno klijanje sjemena. Drugi dokaz o ulozi ABA-e u sprečavanju preuranjenog klijanja jest sprečavanje tzv. viviparije. Viviparija je pojava klijanja sjemena na majčinskoj biljci (**Slika 9.16.**). Ta se pojava često javlja kod žitarica u vlažnim uvjetima. Egzogena primjena ABA-e sprečava pojavu viviparije.

Slika 9.16. Viviparija – klijanje sjemena na majčinskoj biljci

9.5.2.4. Regulacija otvaranja i zatvaranja puči

ABA se smatra hormonom stresa jer se njene povećane koncentracije javljaju u uvjetima povećanog saliniteta, hladnoće i suše (Poglavlje 11). U uvjetima nedostatka vode koncentracija ABA-e u listu može porasti za više od 50 puta. To povećanje koncentracije ABA-e ima važnu ulogu u smanjenju transpiracije, a time i gubitaka vode. Vezanje ABA-e na receptor u stanicama zapornicama aktivira Ca^{2+} kanale. Porast koncentracije kalcija u citosolu uzrokuje otvaranje izlaznih anionskih kanala i inhibiciju H^+-ATPaze, što dovodi do depolarizacije membrane stanica zapornica. Depolarizacija membrane uzrokuje izlazak K^+ iz stanica zapornica, pad turgora i zatvaranje puči.

Uz to, ABA deaktivira rad K^+-kanala zaduženih za prijenos K^+ u stanice zapornice, što nadalje pridonosi zatvaranju puči.

9.5.2.5. Učinak na rast korijena i izdanka u uvjetima niskog vodnog potencijala

ABA različito utječe na rast korijena i nadzemnih organa, a taj je utjecaj ovisan o vodnom statusu biljke. Iako se ABA općenito smatra inhibitorom rasta, inhibicija rasta izdanka pod utjecajem ABA-e javlja se samo u uvjetima niskog vodnog potencijala biljke (nedostatka vode). U takvim je uvjetima koncentracija ABA-e u biljnim tkivima visoka te s jedne strane inhibira rast nadzemnih organa, dok s druge strane potiče rast korijena. Veće korijenje, a manji nadzemni dijelovi biljke, uz pritvaranje puči, omogućuju biljci uspješnije preživljavanje suše.

9.5.2.6. Učinak na starenje lista

Pronalazak ABA-e vezan je uz njen učinak na apsciziju (otpadanje) lišća i plodova. No potom je utvrđeno da ABA uzrokuje apsciziju kod malog broja vrsta te se ona javlja najčešće pod utjecajem etilena. Međutim, ABA ubrzava senescenciju listova te indirektno potiče sintezu etilena koji zatim potiče apsciziju.

9.5.3. Dormantnost i ABA

Tijekom dozrijevanja sjemena embrij se isušuje, zbog čega ulazi u fazu mirovanja. Klijanje sjemena može se definirati kao ponovno pokretanje rasta embrija zrelog sjemena.

Klijanje zahtijeva jednake okolišne čimbenike koje zahtijeva normalni vegetativni rast (temperatura, kisik i voda te izostanak inhibitora rasta).

U mnogim slučajevima vijabilno (živo i zdravo) sjeme ne klija iako se nalazi u uvjetima povoljnim za klijanje. Ta se pojava naziva **dormantnost**.

Dormantnost predstavlja evolucijsku prilagodbu biljaka jer omogućuje dulji period za širenje sjemena (širenje na veće udaljenosti), a također onemogućuje klijanje sjemena neposredno nakon njegova sazrijevanja, kada najčešće nastupaju nepovoljni vremenski uvjeti (kraj vegetacije).

Postoje dva osnovna tipa dormantnosti sjemena:

1. Dormantnost izazvana sjemenom ljuskom
2. Dormantnost embrija.

9.5.3.1. Dormantnost izazvana sjemenom ljuskom (ili drugim čvrstim dijelovima sjemena)

Kod ovog tipa dormantnosti embrij će klijati čim se za to steknu povoljni uvjeti, dakle u prisutnosti vode i kisika te povoljne temperature. Međutim, klijanje embrija onemogućuje sjemena ljuska. Postoji pet uzročnika dormantnosti izazvane sjemenom ljuskom:

a) Sprečavanje primanja vode – često kod biljaka aridnih područja (lupina, djeteline). Različite tvari poput voskova ili pluta onemogućuju ulazak vode u sjeme
b) Mehanička zapreka – sjemena ljuska je toliko čvrsta da je klica ne može probiti. Da bi došlo do klijanja, sjemena ljuska mora se omekšati (uz pomoć različitih hidrolitičkih enzima)
c) Sprečavanje izmjene plinova – sjemena ljuska predstavlja barijeru za ulazak kisika u sjeme
d) Zadržavanje inhibitornih tvari – sjemena je ljuska nepropusna za inhibitorne tvari koje sprečavaju klijanje, a ne mogu difundirati (ne mogu se isprati) iz sjemena
e) Sinteza inhibitornih tvari – sjemena ljuska i drugi dijelovi sjemena mogu sadržavati inhibitorne tvari (ABA, kava kiselina itd.) koje sprečavaju klijanje embrija.

Uklanjanje dormantnosti izazvane sjemenom ljuskom može uključivati postupke poput ispiranja sjemena (uklanjaju se inhibitori iz sjemene ljuske) ili postupak skarifikacije (mehaničkog ili kemijskog oštećivanja tvrde sjemene ljuske).

9.5.3.2. Dormantnost embrija

Ovaj tip dormantnosti nije pod utjecajem sjemene ljuske, nego je izazvan povišenom koncentracijom inhibitornih tvari (ABA) i smanjenom koncentracijom potrebnih hormona rasta (giberelina) u embriju.

Neki vanjski čimbenici mogu ukloniti embrionalnu dormantnost:

a) Naknadno dozrijevanje – prekid dormantnosti uvjetovan sušenjem sjemena (gubitak vlage)
b) Stratifikacija – izlaganje vlažnog sjemena niskim temperaturama (0-10 °C)
c) Kratko izlaganje svjetlosti (salata).

Osim ove podjele dormantnosti, postoje i druge koje se temelje na vremenu njene pojave. Tako postoji **primarna dormantnost** – sjeme koje se odvaja od majčinske biljke u dormantnom je stanju, i **sekundarna dormantnost** – sjeme koje se odvaja od majčinske biljke je nedormantno, ali poslije ulazi u dormantno stanje ako su uvjeti za klijanje nepovoljni (npr. sjeme zobi).

Osim dormantnosti sjemena, postoji i dormantnost pupova. Dormantnost pupova predstavlja važnu prilagodbu višegodišnjih biljaka koja im omogućava preživljavanje nepovoljnih vremenskih uvjeta (npr. zime).

9.6. Brasinosteroidi

Kao i kod životinja, steroidi imaju važnu hormonsku ulogu u biljkama. Biljke sintetiziraju velik broj steroida i sterola. Poznato je više od 70 različitih brasinosteroida, a najpoznatiji su brasinolid (BL) i kastasteron (CS). Brasinosteroidi se pojavljuju u različitim biljnim organima (polen, cvjetni pupovi, plodovi, sjeme, listovi, žilni kambij, izdanci i korijenje). U biljnim tkivima nalaze se kao slobodni ili konjugirani sa šećerima ili lipidima.

Zainteresiranost za brasinosteroide pojavila se zbog pozitivnog učinka ekstrakta polena na rast biljaka. Hormonska aktivnost brasinosteroida dokazana je u pokusu s patuljastim mutantom *Arabidopsis thaliana* (mutant nesposoban za sintezu brasinolida). Tretiranjem takvih patuljastih biljaka brasinolidom potaknut je rast te je njihov izgled bio identičan divljem tipu biljke *Arabidopsis thalina*.

Brasinosteroidi imaju važnu ulogu u mnogim razvojnim procesima biljke, poput rasta stabljike i korijena, inicijacije cvatnje, razvoja cvatova i plodova. Također je utvrđena njihova uloga u odgovoru biljke na abiotski i biotski stres. Brasinosteroidi mogu djelovati kao imunomodulatori jer predstavljaju signalne molekule koje u stresnim uvjetima izazivaju promjene enzimatske aktivnosti (enzima poput katalaze, askorbat peroksidaze, glutation reduktaze i dr.), promjene sinteze zaštitnih tvari poput karotenoida, askorbinske kiseline, salicilne kiseline, prolina i dr., intenziviraju proces fotosinteze i metabolizam dušika.

9.7. Ostale fiziološki aktivne tvari hormonskog djelovanja

Osim dobro poznatog djelovanja opisanih pet skupina hormona (auksini, citokinini, giberelini, apscizinska kiselina i etilen), mnogi biljni sekundarni metaboliti imaju hormonsko djelovanje. Među bolje istraženim i važnijima su: brasinosteroidi, strigolaktoni, jasmonska kiselina, salicilna kiselina i sistemin.

9.7.1. Strigolaktoni

Strigolaktoni predstavljaju biljne signalne molekule. Sintetiziraju se iz karotenoida u kloroplastu i citoplazmi. Strigolaktoni su pronađeni u eksudatima korijena kao tvari koje stimuliraju klijanje sjemena parazitskih korovnih vrsta rodova *Striga* i *Orobanche*.

Prvi dio imena – strigo potječe od imena parazitskih korovnih vrsta roda *Striga* (npr. *Striga hermonthica*), dok se drugi dio imena – lakton odnosi na kemijski sastav tih spojeva. Prema kemijskom sastavu, ti spojevi pripadaju skupini terpenoida ili izoprenoida, a najpoznatiji su strigol i orobanhol.

Osim klijanja sjemena korova, utvrđeno je da strigolaktoni reguliraju i razvoj biljaka te uspostavu mikorize (simbioze između korijena biljaka i gljiva).

Kod nadzemnih organa biljke strigolaktoni sprečavaju rast postranih izdanaka i potiču sekundarno zadebljanje stabljike, dok kod korijenja potiču rast bočnog (lateralnog) korijenja i korijenovih dlačica.

Njihova sinteza pojačava se u uvjetima nedostatka hranjiva u tlu, pri čemu potiču rast korijena, njegovo grananje i rast korijenovih dlačica. Osim toga, strigolaktoni se luče u eksudatima korijena u rizosferu i potiču rast i grananje hifa arbuskularnih mikoriznih gljiva te tako potiču uspostavu mikorize. Mikorizne gljive pomažu usvajanju hranjiva te ih predaju biljci u zamjenu za organske spojeve (šećere). Tako strigolaktoni potiču usvajanje hranjiva u uvjetima slabe opskrbljenosti tla hranjivima.

U uvjetima dobre opskrbljenosti biljke hranjivima, sintetizira se manje strigolaktona, stoga manje strigolaktona iz korijena dolazi u nadzemni dio biljke, što izaziva jače grananje, tj. jači razvoj sekundarnih izdanaka.

9.7.2. Jasmonska kiselina

Najveće koncentracije jasmonske kiseline i njenih konjugata nalaze se u cvjetovima i reproduktivnim organima, a mnogo niže koncentracije u korijenu i razvijenom lišću. Jasmonska kiselina vrlo je pokretljiva i može se transportirati kao otopina (tekućina) ili u plinovitom obliku.

Jasmonska kiselina sintetizira se iz linolenske kiseline, a sinteza se odvija u kloroplastu, peroksisomu i citoplazmi. Jasmonska kiselina ima središnju ulogu u obrambenim mehanizmima biljke prema herbivorima i nekrofitnim gljivama (obitavaju na odumrlom tkivu domaćina).

Oštećenja biljnog tkiva uzrokovana herbivorima izazivaju brzo, ali prolazno povišenje koncentracije jasmonske kiseline koja djeluje kao signalna molekula koja na mjestima oštećenja izaziva nakupljanje sekundarnih metabolita odgovornih za otpornost biljke prema herbivorima.

Uz tu funkciju, jasmonska kiselina utječe i na rast i razvoj biljke. Neki od učinaka jasmonske kiseline su: inhibira klijanje sjemena, pri visokim koncentracijama (>50 μM) potiče senescenciju i otpadanje lišća, dozrijevanje plodova, potiče sintezu etilena.

9.7.3. Salicilna kiselina

Biljke sintetiziraju mnoge fenolne spojeve, a jedan od njih je salicilna kiselina.

Fenolni spojevi predstavljaju sekundarne metabolite uključene u mnoge važne procese kod biljaka, od sinteze lignina i pigmenata do alelopatije i regulacije odgovora na abiotski i biotski stres.

Prvi dokazi da salicilna kiselina posjeduje hormonsko djelovanje vezani su uz istraživanje termogeneze (zagrijavanja biljnih organa).

Naime, cvatovi nekih vrsta, npr. (*Sauromatum guttatum* Schott), zagrijavaju se tijekom cvatnje. Njihova temperatura raste i za 10 °C, zbog čega dolazi do isparavanja tvari koje privlače kukce oprašivače. Zagrijavanju prethodi znatan (i do 100 puta) porast koncentracije salicilne kiseline. Salicilna kiselina izaziva cijanid-rezistentno disanje u mitohondriju (***vidi poglavlje 7.5***), pri čemu se oslobađa toplinska energija.

Osim te uloge, salicilna kiselina uključena je u prijenos signala pri napadu patogena.

Za razliku od jasmonske kiseline, salicilna kiselina regulira otpornost na biotrofne mikroorganizme (za svoj razvoj trebaju živo tkivo domaćina). Salicilna kiselina sintetizira se u kloroplastima, a zatim se transportira u citoplazmu, gdje pokreće imunosnu reakciju.

Osim što utječe na otpornost na biotski stres uzrokovan patogenima, egzogena primjena salicilne kiseline povećava otpornost i na abiotske stresne uvjete, poput suše, smrzavanja, UV radijacije, osmotskog stresa, izloženosti teškim metalima i sl.

Ovisno o koncentraciji, salicilna kiselina utječe i na razvojne procese kod biljaka, poput klijanja sjemena, vegetativnog rasta, cvatnje, senescencije, zatvaranja puči, disanja, fotosinteze, glikolize. Kao što je navedeno, ti procesi mogu biti inhibirani ili potaknuti, ovisno o koncentraciji salicilne kiseline, jer niske koncentracije salicilne kiseline stimuliraju nakupljanje niskih koncentracija reaktivnih oblika kisika (ROS), koji djeluju kao signalne molekule i aktiviraju mnoge biokemijske procese.

Visoke koncentracije salicilne kiseline izazivaju nakupljanje visokih koncentracija ROS-a, što izaziva oksidativni stres i smrt stanica.

9.7.4. Sistemin

Sistemin je polipeptid građen od 18 aminokiselina. Sintetizira se u vrlo niskim koncentracijama (4×10^{-15} mola po biljci) na mjestima ozljeda koje izazivaju herbivori. Sintetizira se kontroliranom proteolizom proteina prosistemina. Sistemin aktivira gene za više od 20 različitih proteina koji imaju ulogu u obrani od herbivora. Uglavnom se radi o antinutritivnim proteinima, kao što su polifenol oksidaza i inhibitori proteinaza.

10. Fiziologija gibanja

Biljke su za razliku od životinja sesilni organizmi, što znači da su pričvršćene za podlogu i ne mogu se aktivno kretati. Međutim, kao i životinje, biljke reagiraju na različite podražaje. Sve više biljke pričvršćene su za tlo uz pomoć korijena. Samo neke alge ili dijelovi viših biljaka (spore i gamete) mogu mijenjati položaj u prostoru, odnosno kretati se **lokomotorno**. Biljke koje su za tlo pričvršćene korijenom reagiraju na vanjske podražaje promjenama u brzini rasta i razvojem pojedinih organa, a u određenoj mjeri dolazi i do gibanja organela ili čitavih organa.

Gibanja omogućuju biljkama zauzimanje najpovoljnijeg položaja u prostoru, primanje vode i hranjiva (korijen) ili svjetlosti (list).

Gibanja biljaka mogu se podijeliti na:

1. Slobodna lokomotorna gibanja
2. Podražajna gibanja (gibanja organa).

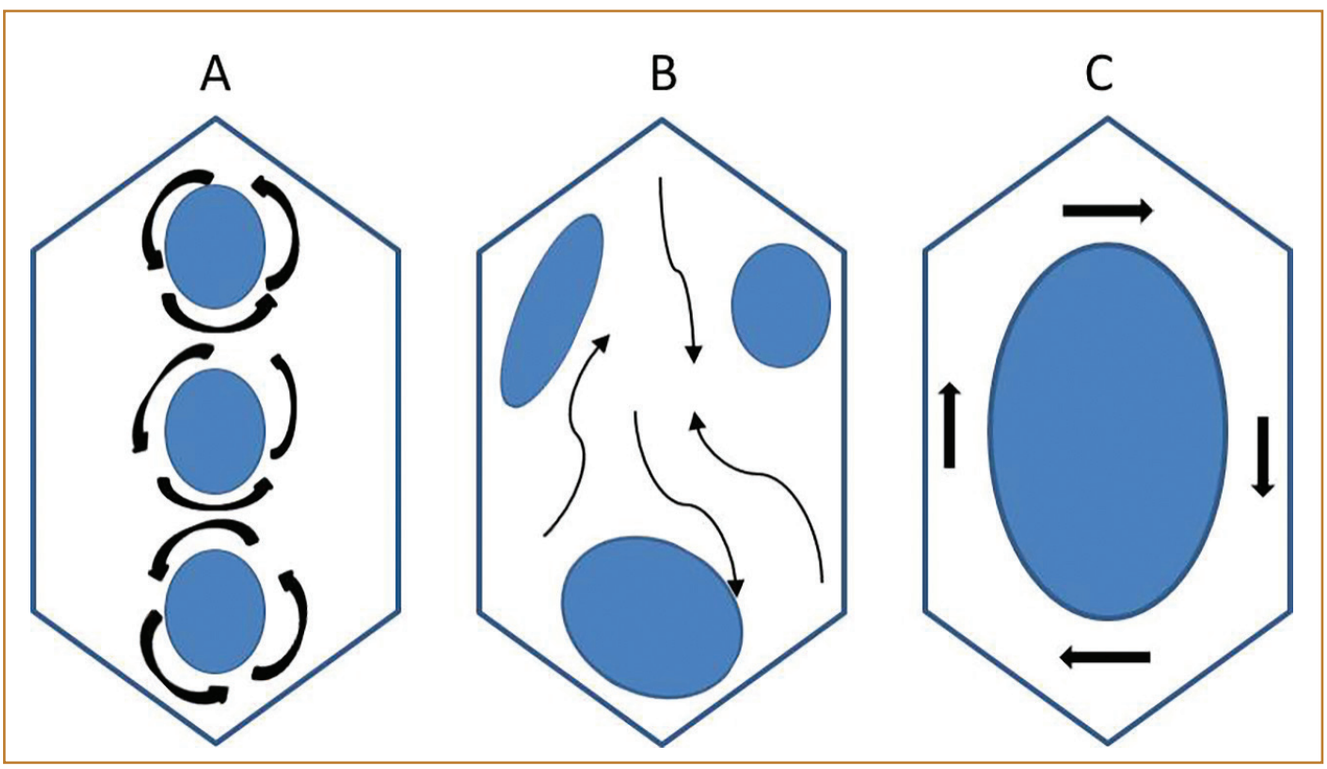
10.1. Slobodna lokomotorna gibanja ili taksije

Ovaj tip gibanja javlja se kod nižih biljaka, bakterija i gljivica. Kod tih organizama različite izrasline poput bičeva, trepetljika i sl. omogućuju aktivno kretanje čitavog organizma. Primjeri takvog kretanja su kretanje kod *Euglena viridis*, papučica, ameba i sl. Kod viših biljaka takav tip gibanja javlja se kod muških spolnih stanica, npr. kod papratnjača ili nekih golosjemenjača (ginko i cikas). Ovisno o smjeru gibanja, taksije mogu biti pozitivne ili negativne, tj. gibanje prema smjeru podražaja ili od njega. Podražaji su različiti vanjski signali poput svjetlosti, temperature, kemijskih tvari, mehaničkih podražaja i sl.

Unutarstanična gibanja

Gibanja staničnog sadržaja (citosola, jezgre, plastida i mitohondrija) također se ubrajaju u slobodna lokomotorna gibanja.

Strujanje citoplazme pojava je koja može biti autonomna, ali može biti izazvana i vanjskim čimbenikom. Javlja se zbog kontrakcija kontraktilnih proteina, mikrofilamenata. Brzina strujanja citoplazme najviše ovisi o njenoj viskoznosti te o broju i položaju vakuola u stanici. Postoje različiti tipovi strujanja citoplazme, a najčešća su rotacijsko, cirkulacijsko i fluktuacijsko (**Slika 10.1.**).



Slika 10.1. Tipovi strujanja citoplazme: A) cirkulacijsko; B) fluktuacijsko; C) rotacijsko.

Strujanjem citoplazme dolazi do kretanja organela, poput jezgre, plastida i mitohondrija. No te se organele mogu gibati i neovisno o strujanju citoplazme. Tako se jezgra najčešće kreće prema mjestu intenzivnog rasta, a kloroplasti se kreću unutar stanice i zauzimaju položaj i oblik koji im omogućava najbolje iskorištenje svjetlosti ili zaštitu od prejakog intenziteta svjetlosti.

10.2. Podražajna gibanja organa

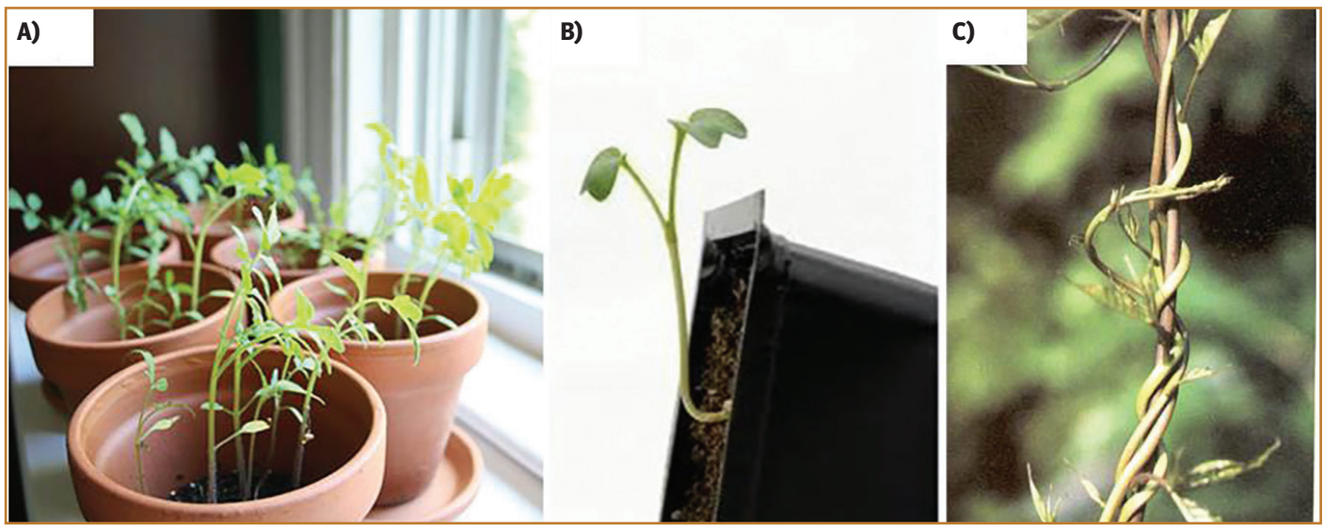
Pod podražajnim gibanjima podrazumijevamo gibanja izazvana nekim vanjskim podražajem (fizikalnim ili kemijskim signalom). Ovisno o smjeru gibanja, prema podražaju koji izaziva gibanje ili od njega, razlikujemo pozitivna (prema podražaju) i negativna (od podražaja) gibanja.

Podražajna gibanja organa dijelimo na:

1. Tropizme
2. Nastije.

10.2.1. Tropizmi

Tropizmi su gibanja biljaka u vidu svijanja i promjena intenziteta rasta pojedinih dijelova biljke izazvana jednostranim podražajem. Najpoznatiji tropizmi su kretanje (svijanje) biljke prema izvoru svjetlosti – fototropizam (**Slika 10.2. A**), rast izdanka suprotno (**Slika 10.2. B**) i korijena prema izvoru sile teže – geotropizam, te svijanje biljaka oko potpornja – tigmotropizam (**Slika 10.2. C**).



Slika 10.2. Tropizmi u biljaka: A) fototropizam, B) negativni geotropizam izdanka (korijen raste pozitivno geotropno) i C) tigmotropizam

10.2.2. Nastije

Nastije su podražajna gibanja organa čiji je smjer određen građom i simetrijom organa koji se giba, a vanjski podražaj djeluje samo kao signal. Najčešće se javljaju pod utjecajem promjene turgora.

Najpoznatija i najčešća nastijska gibanja su gibanja pući (fotonastija, hidronastija i termonastija) (***vidi poglavlje 2.4.3.***).

No nastijska gibanja mogu biti i potaknuta drugim vanjskim signalima, npr. toplinom – termonastija, mehaničkim podražajem – seizmonastija, izmjenom dana i noći – niktinastija, te dodirom – tigmonastija (**slika 10.3.**).

Slika 10.3. Tigmonastija – kretanje lista *Mimosa pudica* prilikom dodira.

10.3. Autonomna gibanja – nutacije

Osim podražajnih gibanja, kod biljaka postoje i autonomna gibanja koja nisu pod utjecajem vanjskog podražaja, nego čimbenika unutar biljke (rast i razvoj). Takva se gibanja nazivaju nutacije.

11. Fiziologija stresa

Biljke su vrlo često izložene stresnim uvjetima, bilo da je riječ o prirodnim uvjetima ili uvjetima poljoprivredne proizvodnje. Stres se može javiti unutar nekoliko minuta (npr. mraz) ili je potrebno razdoblje od nekoliko dana ili tjedana (npr. nedostatak vode) ili čak mjeseci (npr. nedostaci hranjiva ili prisutnost tvari u toksičnim koncentracijama). Stresni čimbenici uvelike ograničavaju poljoprivrednu proizvodnju diljem svijeta i uzrokuju velike gubitke u prinosima. Stresni čimbenici (klimatska i pedološka ograničenja) uvelike određuju rasprostranjenost pojedinih biljnih vrsta. Zbog toga je poznavanje fizioloških mehanizama koji se javljaju pod utjecajem stresnih čimbenika, kao i adaptacija i aklimatizacija na njih od ključne važnosti za poljoprivrednu proizvodnju.

Stres se obično definira kao okolišni čimbenik koji djeluje nepovoljno na biljku. U ovom ćemo poglavlju govoriti o **abiotskim stresnim čimbenicima**, iako stres mogu izazvati i **biotski čimbenici kao što su korovi, bolesti i štetnici**.

Koncept stresa usko je povezan s **tolerantnošću** na stres **koja predstavlja sposobnost biljke da se nosi sa stresnim čimbenikom** (s nepovoljnim okolišnim čimbenikom). U literaturi se često miješaju pojmovi rezistentnost (otpornost) i tolerantnost, iako se u većini slučajeva preferira termin tolerantnost.

Ako je povećana tolerantnost rezultat prethodnog izlaganja biljka stresnom čimbeniku, govorimo o **aklimatizaciji (kaljenje)**. Aklimatizaciju treba razlikovati od **adaptacije** pod kojom se najčešće smatra genetski uvjetovan stupanj otpornosti postignut tijekom dugotrajnijeg selekcijskog procesa. Nažalost, u literaturi se često miješaju pojmovi adaptacije i aklimatizacije. Razlog tome vjerojatno leži u činjenici da geni igraju važnu ulogu i u procesu aklimatizacije.

Aklimatizacija i adaptacija na stresne čimbenike rezultat su niza integriranih reakcija koje se javljaju na svim razinama organizacije, od molekularne, biokemijske i stanične do anatomske i morfološke razine.

11.1. Stres uzrokovan nedostatkom vode

Stres nedostatka vode jedan je od glavnih ograničavajućih čimbenika poljoprivredne proizvodnje u svijetu.

U ovom ćemo poglavlju govoriti o mehanizmima koji biljkama omogućuju toleriranje nedostatka vode. Ali prije svega moramo razdvojiti pojmove **odgađanja isušivanja (desikacije), tolerancije isušivanja i izbjegavanja suše**:

1. odgađanje isušivanja je sposobnost održavanja hidratiziranosti tkiva
2. tolerancija isušivanja je zadržavanje funkcija pri isušivanju
3. izbjegavanje suše predstavlja završavanje životnog ciklusa biljke prije nego što nastupi suša.

Već je iz ove podjele vidljivo da se mehanizmi i strategije otpornosti na sušu mogu razlikovati.

Nedostatak vode može se definirati kao svaka količina vode u tkivu ili stanici koja je manja od količine vode u optimalno hidratiziranom stanju.

Kada se nedostatak vode odvija dovoljno polagano da izazove promjene u razvoju biljke, može se uočiti nekoliko važnih učinaka nedostatka vode na rast i razvoj biljke.

Osnovne aklimatizacijske strategije koje se javljaju u uvjetima nedostatka vode su:

1. Smanjenje lisne površine
2. Odbacivanje lišća (apscizija)
3. Pojačani rast korijena
4. Pritvaranje puči
5. Osmotska prilagodba
6. Zadebljanje kutikule.

11.1.1. Smanjenje lisne površine

Sa smanjenjem sadržaja vode u biljci dolazi do pada turgorskog tlaka u stanicama.

Padom turgora, smanjuje se volumen stanica, stanični sadržaj postaje koncentriraniji, a stanična membrana manje napeta i deblja. Rast stanica pod utjecajem je turgora te posljedično sa smanjenjem turgora dolazi i do smanjenja rasta stanica.

Osim smanjenja turgora, nedostatak vode smanjuje i elastičnost staničnih stijenki, što također utječe na rast stanica. Smanjenje rasta stanica rezultira manjim lišćem, odnosno smanjenom lisnom površinom.

Smanjena lisna površina pomaže čuvanju vode jer manji listovi manje transpiriraju (sporije gube vodu). Stoga se smanjenje površine lista može smatrati prvom crtom obrane od stresa nedostatka vode.

11.1.2. Odbacivanje lišća (apscizija)

U uvjetima nedostatka vode ne samo da dolazi do smanjenja lisne površine nego i do smanjenja broja listova. Listovi brže stare i otpadaju (dolazi do pojačane sinteze etilena koji potiče otpadanje lišća).

11.1.3. Pojačani rast korijena

Umjereni stres uzrokovan nedostatkom vode utječe na razvoj korijena. Omjer mase korijena i nadzemnog dijela pod utjecajem je ravnoteže između primanja vode korijenom i fotosintetske aktivnosti nadzemnog dijela. Pojednostavljeno rečeno, nadzemni organi će rasti sve dok ih korijen opskrbljuje dovoljnom količinom vode i hranjiva, i obratno, korijen će rasti sve dok ga nadzemni organi opskrbljuju dovoljnom količinom asimilata. Kao što smo već naveli, lisna površina i broj listova smanjuju se u ranim fazama nedostatka vode, dok se intenzitet fotosinteze nastoji održati nepromijenjen. Smanjenje lisne površine omogućuje manju potrošnju vode, ali i energije pa se stoga više ugljikohidrata translocira u korijen i omogućuje njegov rast. No u suhom tlu i korijenov vrh vrlo brzo gubi turgor, stoga korijen raste tamo gdje je tlo još vlažno. Kako nedostatak vode (suša) napreduje, najčešće dolazi

do isušivanja gornjih slojeva tla pa biljke razvijaju dublje korijenje. Razvoj dubljeg korijenja predstavlja „drugu liniju obrane“ od suše.

Povećani rast korijena tijekom suše zahtijeva translokaciju asimilata iz nadzemnih organa u korijen. U generativnoj fazi znatan izljev predstavljaju plodovi (asimilati se troše na rast ploda), pa korijenje dobiva manje asimilata. Stoga, ako se stres nedostatka vode javi u generativnoj fazi razvoja biljaka, efekt pojačanog rasta korijena bit će slabije izražen.

11.1.4. Pritvaranje puči

U uvjetima intenzivne (brze) pojave stresa uzrokovanog nedostatkom vode ili kada su biljke već razvile maksimalnu lisnu površinu aktiviraju se drugi mehanizmi koji sprečavaju isušivanje biljke. Jedan od najbitnijih takvih mehanizama je pritvaranje puči kojim se smanjuje transpiracija, odnosno gubitak vode. Stoga se „trećom linijom“ obrane od suše može smatrati pritvaranje puči. Otvaranje i zatvaranje puči regulirano je promjenom turgora u stanicama zapornicama (***Poglavlje 2.4.3.***). Stanice zapornice su modificirane stanice epiderme lista i upravo zbog toga mogu izgubiti turgor kao rezultat izravnog gubitka vode u atmosferu.

Takav način pritvaranja puči (zbog izravnog gubitka vode i pada turgora) naziva se **hidropasivno pritvaranje puči**. Drugi mehanizam pritvaranja puči naziva se **hidroaktivno pritvaranje puči,** javlja se u uvjetima kada je cijeli list i/ili korijen isušen, a pokreću ga metabolički procesi u stanicama zapornicama. Hidroaktivno pritvaranje puči javlja se zbog smanjenja koncentracije osmotski aktivnih tvari u stanicama zapornicama (pad osmotskog potencijala), zbog čega dolazi do izlaska vode i pada turgora u stanicama zapornicama. Smanjenje koncentracije osmotski aktivnih tvari u stanicama zapornicama javlja se pod utjecajem apscizinske kiseline (ABA). Apscizinska se kiselina u vrlo niskim koncentracijama konstantno sintetizira u stanicama mezofila te se nagomilava u kloroplastima. U uvjetima blage dehidracije mezofila aktiviraju se dva procesa:

1. Dio apscizinske kiseline pohranjene u kloroplastima otpušta se u apoplast (međustanične prostore) mezofilnih stanica, a zatim transpiracijska struja vode nosi ABA-u do stanica zapornica
2. Intenzivira se sinteza ABA-e te se njene veće koncentracije nakupljaju u apoplastu lista. Ovaj drugi proces (sinteza ABA-e) produljuje, odnosno održava proces pritvaranja puči koji se javlja zbog otpuštanja ABA-e iz kloroplasta.

Također, tijekom stresa uzrokovanog nedostatkom vode dolazi do prijenosa kemijskih signala (ABA) iz korijena u list, zbog čega dolazi do pritvaranja puči. Zapravo je provodljivost puči neizravno pod većim utjecajem vodnog statusa tla nego vodnog statusa lista, a jedini biljni organ koji je pod izravnim utjecajem vodnog statusa tla jest korijen.

11.1.5. Osmotska prilagodba

Sa smanjenjem količine vode u tlu dolazi do pada vodnog potencijala tla. Biljke mogu primati vodu iz tla sve dok je vodni potencijal stanica korijena (Ψ_w) manji (negativniji) od vodnog potencijala tla. Osmotska prilagodba predstavlja proces akumulacije otopljenih tvari (osmotski aktivnih tvari) u stanicama. Tako stanica smanjuje vodni potencijal (vodni potencijal postaje negativniji) bez znatne promjene turgora ili volumena stanice (za detalje o vodnom potencijalu vidi ***poglavlje 2.2.***).

Pri osmotskoj prilagodbi u stanici dolazi do nakupljanja različitih otopljenih tvari, uglavnom šećera, organskih kiselina, aminokiselina te anorganskih iona (osobito K^+). Ioni se uglavnom nakupljaju u vakuoli zbog toga što njihova visoka koncentracija u citosolu može inhibirati mnoge enzime. No zbog povećane koncentracije iona u vakuoli, i u citoplazmi mora doći do povećanja koncentracije otopljenih tvari kako bi se održala ravnoteža vodnog potencijala unutar stanice.

Otopljene tvari koje se nakupljaju u citoplazmi nazivaju se **kompatibilne osmotski aktivne tvari**, a predstavljaju tvari koje ne inhibiraju enzime. U kompatibilne osmotski aktivne tvari ubrajaju se aminokiselina prolin, šećerni alkoholi (manitol i sorbitol) i amin poznat pod nazivom glicin betain. Sinteza kompatibilnih osmotskih tvari javlja se i u uvjetima uzrokovanim povišenim salinitetom.

Osmotska prilagodba odvija se polagano tijekom nekoliko dana. Listovi koji imaju mogućnost osmotske prilagodbe imaju sposobnost održavanja turgora pri manjem vodnom potencijalu u usporedbi s listovima koji nisu prošli osmotsku prilagodbu. Održavanje turgora omogućuje normalan tijek rasta stanica (elongaciju stanica) te veću otvorenost puči pri nižem vodnom potencijalu, što dovodi do zaključka da je osmotska prilagodba zapravo proces aklimatizacije.

11.1.6. Zadebljanje kutikule

Kutikula je voštana prevlaka koja se nalazi iznad epidermalnih stanica, a funkcija joj je smanjenje gubitka vode (kutikularna transpiracija). U uvjetima nedostatka vode biljke često sintetiziraju deblju kutikulu. Deblja kutikula također smanjuje ulazak CO_2, no fotosinteza najčešće ostaje nepromijenjena jer epidermalne stanice koje se nalaze ispod kutikule ne provode fotosintezu (CO_2 za fotosintezu ulazi u list putem puči). Kutikularna transpiracija čini samo 5-10 % ukupne transpiracije, pa je debljina kutikule bitna jedino u uvjetima izraženije suše ili kada je kutikula oštećena (npr. zbog vjetra).

Nedostatak vode smanjuje intenzitet fotosinteze (količina usvojenog CO_2 po jedinici lisne površine u jedinici vremena) iako proces fotosinteze ne reagira tako izraženo na nedostatak vode kao što je to slučaj s lisnom površinom. Razlog tome je što fotosinteza nije toliko osjetljiva na pad turgora kao što je rast stanica. Međutim, zbog pritvaranja puči u uvjetima stresa suše dolazi do smanjenja ulaska CO_2 u list te pada intenziteta fotosinteze.

11.2. Stres uzrokovan visokim temperaturama – toplinski stres

Većina tkiva viših biljaka nije u stanju preživjeti temperature više od 45 °C. Neka biljna tkiva ili organi (npr. sjeme i polen) mogu preživjeti mnogo više temperature. Stres uzrokovan visokim temperaturama najčešće je povezan sa stresom nedostatka vode, što otežava njegovo proučavanje. Pri visokim temperaturama i dovoljnim količinama vode nadzemni organi većine C_3 i C_4 biljaka održavaju svoju temperaturu ispod 45 °C povećanjem izlučivanja vode (evaporativno hlađenje). Ako okolišni čimbenici, kao što su nedostatak vode ili visoka relativna vlaga zraka, spriječe evaporativno hlađenje, temperatura biljke može znatno porasti. Kao odgovor na visoke temperature, biljke su razvile brojne složene obrambene mehanizme. Mnoge CAM biljke posjeduju mehanizme kojima toleriraju visoke temperature (60-65 °C) i visoku insolaciju. CAM biljke zatvaraju puči tijekom dana kako bi čuvale vodu, a to im, pak, onemogućava da se hlade transpiracijom. Umjesto toga, ove biljke rasipaju višak primljene svjetlosne energije u obliku dugovalnog (infracrvenog) zračenja te kondukcije i konvekcije. S druge strane, C_3 i C_4 biljke ovise o hlađenju transpiracijom te im se u popodnevnim satima zbog jakog intenziteta svjetla i nedostatka vode u tlu temperatura lista diže za 4-5 °C u odnosu na temperaturu okolnog zraka.

U uvjetima stresa uzrokovanog visokim temperaturama dolazi do inhibicije fotosinteze i disanja, pri čemu je fotosinteza osjetljivija na negativne učinke visokih temperatura. Temperatura pri kojoj se izjednači koncentracija CO_2 usvojena u procesu fotosinteze s količinom CO_2 otpuštenom u procesu disanja naziva se temperaturnom kompenzacijskom točkom. Pri temperaturama višim od temperaturne kompenzacijske točke fotosinteza ne može nadoknaditi količine ugljikohidrata koji se troše disanjem, pa se zbog toga počinju razgrađivati rezerve ugljikohidrata (plodovi su manje slatki). C_3 biljke osjetljivije su na visoke temperature u usporedbi s C_4 i CAM biljkama, a razlog je utjecaj fotorespiracije (***vidi poglavlje 5.4.***).

Visoke temperature utječu na stabilnost i strukturu membrana jer povećavaju fluidnost membranskih lipida. Osim toga, oslabljuju vodikove i elektrostatske veze između polarnih grupa membranskih proteina. Narušavanje membranskih struktura zapravo je uzrok inhibicije procesa fotosinteze pri visokim temperaturama (najosjetljiviji je PSII i uz njega vezan transport elektrona).

Postoji nekoliko prilagodbi koje štite biljke od visokih temperatura, one se uglavnom baziraju na **smanjenju primanja svjetlosne energije i na njenoj refleksiji**. Osnovni mehanizmi su uvijanje lišća, smanjenje lisne površine, sinteza voštanih prevlaka, rast dlačica na listu, vertikalni rast listova i sl. Najizraženiji fiziološki zaštitni mehanizam od stresa uzrokovanog visokim temperaturama je sinteza **proteina toplinskog** šoka (Heat shock proteins – HSP). Većina HSP-a funkcionira kao šaperoni. Stres visokih temperatura izaziva denaturaciju mnogih staničnih proteina, u koje spadaju i brojni enzimi.

Denaturacijom enzimi gube svoju funkciju, a uz to se takvi proteini često spajaju u veće agregate i talože u stanici. HSP-i djeluju kao šaperoni, tj. vežu se na proteine (enzime) i druge strukture u stanici i sprečavaju gubitak njihove konformacije (strukture iz koje proizlazi funkcija pojedinog proteina). Ti se proteini sintetiziraju u uvjetima naglog porasta temperature, a javljaju se i kod biljaka i kod životinja. Stanice koje sadrže HSP-e mogu izdržati temperature koje bi u normalnim uvjetima bile letalne za njih. Neki HSP-i nisu specifični za stres uzrokovan visokim temperaturama, već se javljaju i kod suše, ozljeđivanja, povišenog saliniteta i sl.

11.3. Stres uzrokovan niskim temperaturama – hlađenje i smrzavanje

Niske temperature koje uzrokuju stres su temperature koje nisu pogodne za rast, ali su više od temperatura pri kojima dolazi do stvaranja leda. Logično, biljke tropskih i suptropskih krajeva vrlo su osjetljive na niske temperature (kukuruz, grah, riža, krastavac, rajčica itd.). Kad biljke koje uzgajamo pri relativno visokim temperaturama (25-35 °C) izložimo temperaturama od 10-15 °C, dolazi do stresa uzrokovanog niskim temperaturama. Stres niskih temperatura prepoznaje se po usporavanju rasta, promjeni boje listova, pojavi lezija na listovima, a listovi izgledaju razmočeno (kao da su dugo bili potopljeni u vodi). Stres niskih temperatura može se znatno ublažiti ako se biljke polagano izlažu sve nižim temperaturama; to je tzv. **kaljenje**, odnosno aklimatizacija.

Stres niskih temperatura mijenja svojstva membrana. Pri stresu niskih temperatura dolazi do inhibicije fotosinteze, sporije translokacije ugljikohidrata, inhibicije sinteze proteina, inhibicije procesa staničnog disanja itd. Sve te reakcije javljaju se zbog narušavanja strukture i funkcije biomembrana.

Biomembrane su građene od fosfolipidnog dvosloja s integralnim i asociranim proteinima. Fizikalna svojstva lipida utječu na aktivnost membranskih proteina, uključujući crpke, nosače, kanale, H^+-ATPaze koje reguliraju transport iona i drugih otopljenih tvari.

Kod biljaka osjetljivih na niske temperature lipidi biomembrana sadrže velik udio zasićenih masnih kiselina, zbog čega su takve membrane podložne skrutnjivanju (polukristalično stanje) pri niskim temperaturama. Kako membrane postaju manje fluidne, njihovi proteini gube funkciju.

Rezultat toga je inhibicija H^+-ATPaza, transporta otopljenih tvari te procesa fotosinteze i disanja.

Kod biljaka otpornih na niske temperature lipidi biomembrana sadrže velik udio nezasićenih masnih kiselina. Uz to, kod ovih biljaka tijekom aklimatizacije na niske temperature dolazi do dodatnog povećanja udjela nezasićenih masnih kiselina u biomembranama i povećane aktivnosti enzima koji vrše desaturaciju. Te prilagodbe omogućuju da biomembrane zadrže fluidnost i pri nižim temperaturama (snižavaju točku kod koje biomembrane prelaze iz fluidnog u polukristalično stanje).

Stres smrzavanja

Stres smrzavanja javlja se pri temperaturama nižim od točke ledišta vode.

Različita biljna tkiva različito su otporna na niske temperature. Tkiva s niskim sadržajem vode (spore i sjeme) mogu preživjeti vrlo niske temperature (čak i blizu apsolutne nule -273 °C). Uz temperaturu, na preživljavanje stanica i/ili tkiva utječe i brzina hlađenja. Tako pri stresu smrzavanja u eksperimentalnim uvjetima vrlo nagli pad temperature sprečava nastanak velikih sporastućih kristala leda koji mehanički oštećuju stanične strukture. Kristali leda koji nastaju pri brzom smrzavanju vrlo su sitni i fini i ne izazivaju mehanička oštećenja. S druge strane, pri otapanju, brz porast temperature sprečava povezivanje malih kristalića leda u veće agregate koji mogu oštetiti stanice. Međutim, u prirodnim uvjetima smrzavanje nikada nije dovoljno brzo da bi se spriječio nastanak velikih kristala leda. Led se najprije stvara u međustaničnim prostorima i u ksilemu, kroz koje se led vrlo brzo širi. Samo formiranje leda nije letalno za biljku i ona se može oporaviti nakon odmrzavanja. Međutim, pri produljenom djelovanju temperatura koje izazivaju stvaranje leda u biljnim tkivima, led koji nastane u međustaničnim prostorima uzrokuje pad vodnog potencijala te vodni potencijal u međustaničnim prostorima postaje negativniji u usporedbi s vodnim potencijalom stanica. Zbog toga (gradijenta vodnog potencijala) tekuća voda izlazi iz stanica (simplasta), a stanica se plazmolizira i dehidrira (isušuje).

U uvjetima brzog smrzavanja dolazi do tzv. **učinka pothlađivanja** (**supercooling** efekt), a to je stanje u kojem voda ostaje tekuća unutar protoplasta pri temperaturama čak do nekoliko stupnjeva nižim od teoretske točke ledišta. Da bi nastao kristal leda, potrebno je nekoliko stotina molekula vode. Proces kojim se molekule vode spajaju u kristal leda naziva se nukleacija leda. Taj proces uvelike ovisi o površinskim svojstvima molekula. Kao jezgre (nukleatori) za formiranje leda u stanicama služe veliki polisaharidi i proteini. Stvaranje kristala leda unutar stanice mehanički oštećuje stanične strukture. Učinak pothlađivanja javlja se zahvaljujući proteinima (antifriz proteini) koji se vežu na površinu kristala leda i sprečavaju njihov rast („lijepljenje" novih molekula vode na kristal leda). Sintezu ovih proteina induciraju niske temperature. Kod pothlađivanja nije, dakle, riječ o sniženju ledišta vode zbog visoke koncentracije otopljenih tvari u stanici, nego je riječ o antifriz proteinima koji sprečavaju nukleaciju leda.

Osim tog efekta, neki proteini i šećeri mogu imati ulogu u stabilizaciji proteina i membrana tijekom smrzavanja.

1. Neke višegodišnje drvenaste kulture (voćne vrste), kao i ozime vrste (poput ozime pšenice, ječma i dr.) mogu se aklimatizirati na vrlo niske temperature. Taj se proces naziva kaljenje i teče u dvije faze: prva faza javlja se tijekom jeseni, a potiču je kraći dani (kraći fotoperiod) te niske temperature (iznad točke ledišta). Kombinacija tih faktora zaustavlja rast. Smatra se da ABA difundira iz lista u stabljike i potiče aklimatizaciju. U ovoj fazi dolazi do povlačenja vode iz ksilemskih elemenata, što sprečava pucanje drveta pri smrzavanju. Stanice u ovoj fazi mogu preživjeti temperature niže od 0 °C.
2. Drugu fazu stimuliraju temperature ispod točke ledišta, a mehanizam nije poznat, no nakon ovog procesa stanice mogu preživjeti temperature niže od -50 °C.

11.4. Stres uzrokovan povišenim salinitetom

U prirodnim uvjetima stres izazvan visokim koncentracijama soli javlja se u blizini mora ili na područjima gdje su se nekada u prošlosti nalazile morske površine. Međutim, za poljoprivrednu proizvodnju najznačajnija je akumulacija soli u oraničnom sloju tla. Do akumulacije soli u tlu može doći tijekom dugogodišnje gnojidbe i navodnjavanja. Voda se iz tla gubi evaporacijom i transpiracijom (u obliku vodene pare), što povećava koncentraciju otopljenih soli u tlu. Pr navodnjavanju vodom koja sadrži visoke koncentracije otopljenih soli te ako ne postoji mogućnost ispiranja viška soli iz tla u sustav odvodnje, u tlu se vrlo brzo nakupljaju visoke koncentracije soli koje mogu izazvati oštećenja biljaka. Pri raspravi o negativnim utjecajima soli u tlu u literaturi se često zasebno razmatra negativni utjecaj visoke koncentracije natrijevih (Na^+) iona (eng. sodicity) te negativni utjecaj visoke koncentracije ukupnih soli (eng. salinity). Iako su reakcije biljke na oba navedena stresora podjednake, visoke koncentracije natrija imaju i negativan utjecaj na strukturu tla.

Tla s visokim koncentracijama Na^+ imaju narušenu strukturu, zbijenija su (manje porozna i slabije propusnosti za vodu), što predstavlja dodatni problem rastu biljke. Zaslanjenost tla ili vode za navodnjavanje mjeri se električnom provodljivošću (electro conductivity – EC) ili osmotskim potencijalom. Čista voda vrlo je slab vodič električne energije jer sadrži nisku koncentraciju otopljenih soli. Što je viša koncentracija otopljenih soli u vodi, to je veći EC, odnosno elektroprovodljivost, a manji (negativniji) osmotski potencijal (veći osmotski tlak). Kvaliteta vode za navodnjavanje u mnogim je područjima u svijetu vrlo loša jer sadrži visoke koncentracije otopljenih soli.

Prema mogućnostima toleriranja visoke koncentracije soli u tlu, biljke se mogu podijeliti u dvije velike skupine:

Halofiti – rastu na zaslanjenim tlima (završavaju svoj životni ciklus na zaslanjenim tlima);

Glikofiti – ili nehalofiti, biljke su koje ne mogu tolerirati visoke koncentracije soli.

Različite poljoprivredne kulture različito su osjetljive na visoke koncentracije soli u tlu (**tablica 11.1.**).

Osjetljive	Srednje osjetljive	Tolerantne
kukuruz	ječam	šećerna repa
luk	pamuk	datulje
salata		
grah		
agrumi		

Tablica 11.1. Osjetljivost poljoprivrednih kultura na zaslanjenost tla

Visoka koncentracija soli u tlu uzrokuje pad osmotskog potencijala otopine tla, zbog čega pada vodni potencijal. Pojednostavljeno, da bi biljka usvojila vodu, vodni potencijal korijena mora biti manji od vodnog potencijala otopine tla, a da bi se voda prenijela iz korijena do lista, vodni potencijal lista mora biti manji od vodnog potencijala korijena (Poglavlje 2). **Stoga, povišena koncentracija soli u tlu mijenja vodni potencijal tla** pa je učinak visoke koncentracije soli u otopini tla sličan učinku nedostatka vode u tlu. **Osnovna razlika između stresa uzrokovanog nedostatkom vode i stresa uzrokovanog povišenim salinitetom jest u količini ukupno dostupne vode.** U uvjetima nedostatka vode limitirana je dostupnost vode, a kako biljka prima vodu u takvim uvjetima, dolazi do dodatnog smanjenja vodnog potencijala tla u blizini korijena. S druge strane, u uvjetima visokog saliniteta tla, biljci je najčešće pristupačna jednaka količina vode, određenog (niskog) vodnog potencijala. Pritom je vrlo važna činjenica da u uvjetima visokog saliniteta kod većine biljaka može doći do **osmotske prilagodbe**, kao i kod stresa nedostatka vode. Osmotska prilagodba omogućuje stanici primanje vode i održavanje turgora, čime se omogućuje daljnji rast stanica, iako je taj rast najčešće sporiji nego u normalnim uvjetima.

Osim niskog vodnog potencijala, kod visokog saliniteta dolazi i do **toksičnosti iona** (najčešće Na^+, Cl^-, SO_4^{2-}). U normalnim uvjetima u citosolu se nalazi 100-200 mM K^+ iona i 1-10 mM Na^+ iona. Pri takvim koncentracijama (i odnosu) K^+ i Na^+ iona enzimatska aktivnost je normalna. Pri visokim koncentracijama Na^+ dolazi do poremećaja rada enzima i sinteze proteina. Na^+ može izbiti Ca^{2+} ione iz stanične membrane te promijeniti njenu permeabilnost. Nakupljanjem Cl^- i Na^+ u kloroplastima dolazi do inhibicije fotosinteze.

Biljke posjeduju različite mehanizme koji im omogućuju toleriranje visokih koncentracija soli.

Enzimi izolirani iz halofita i glikofita jednako su osjetljivi na visoke koncentracije soli, što upućuje na to da halofiti ne posjeduju metabolizam tolerantan na soli, nego je riječ o posebnim mehanizmima izbjegavanja oštećenja zbog stresa povišenog saliniteta. Biljke umanjuju stres uzrokovan visokim koncentracijama soli tako što sprečavaju ulazak soli u meristeme, osobito u vršni meristem izdanka te u listove koji intenzivno rastu i vrše fotosintezu. Kod biljaka osjetljivih na soli tolerantnost ovisi o stupnju do kojeg korijen može spriječiti ulazak soli u korijen i njihov transport do nadzemnih dijelova. U poglavlju 2 opisali smo Casparijevu prugu kao morfološku prepreku koja onemogućuje apoplastni prolazak vode i otopljenih tvari u ksilem. Dakle, u endodermi korijena (stanice koje imaju Casparijevu prugu) voda s otopljenim ionima mora ući u simplast da bi se transportirala do ksilema u centralnom cilindru korijena. Taj mehanizam omogućuje biljci da djelomično spriječi transport soli u nadzemne organe biljke.

Ioni natrija ulaze u korijen pasivno (niz elektrokemijski potencijal), zbog čega stanice korijena moraju uložiti energiju (aktivni transport) žele li izbaciti Na^+ ponovno u otopinu tla. S druge strane, stanična membrana zbog svog negativnog električnog potencijala slabo je propusna za ione klora. Daljnje smanjenje ulaska, odnosno transporta Na^+ u nadzemne organe odvija se u ksilemu, gdje se ioni natrija apsorbiraju u stanice koje okružuju ksilem i tako smanjuju koncentraciju Na^+ u transpiracijskom toku. Neke biljne vrste posjeduju solne žlijezde, koje se najčešće nalaze na listovima. Kod tih se biljka ioni apsorbiraju iz ksilemskog toka i transportiraju u takve žlijezde. Žlijezde izlučuju višak soli na površinu organa (listova), gdje dolazi do kristalizacije soli.

Osim tih mehanizama, kao što je već navedeno, da bi biljke mogle normalno usvajati vodu iz zaslanjenih tala, njihove stanice moraju proći osmotsku prilagodbu. Osmotska prilagodba predstavlja snižavanje osmotskog potencijala (Ψ_s) kako bi se snizio vodni potencijal (Ψ_w) stanice. Padu osmotskog potencijala doprinose dva procesa u stanicama: povećanje koncentracije iona u vakuolama i sinteza kompatibilnih **osmotski aktivnih tvari** u citosolu.

Kao što je navedeno u poglavlju o stresu uvjetovanom nedostatkom vode, kompatibilne osmotski aktivne tvari su prolin, sorbitol, manitol, saharoza, glicin betain itd. Pojedine biljne vrste preferiraju sintezu jedne ili dviju takvih tvari (ne svih). Sinteza kompatibilne osmotski aktivne tvari predstavlja znatno opterećenje za biljku u smislu utroška asimilata.

Naime, čak do 10% ukupno asimiliranog ugljika može biti utrošeno na sintezu ovih spojeva, što kod poljoprivrednih kultura znači izravno smanjenje prinosa. Međutim „trošak“ osmotske prilagodbe omogućuje biljci preživljavanje stresnih čimbenika.

Osim osmotske prilagodbe, stres soli izaziva i druge promjene slične onima koje smo opisali kod stresa suše (nedostatka vode), primjerice smanjenje lisne površine. No kao što je već navedeno, kod stresa soli, osim stresa niskog vodnog potencijala dolazi i do toksičnosti iona.

Sa stajališta utroška metaboličke energije i osmotske prilagodbe, jasno je da je povećanje koncentracije iona u vakuoli energetski isplativije za stanicu od sinteze osmotski kompatibilnih spojeva. Međutim, povećana koncentracija iona u citosolu toksična je za mnoge enzime, stoga se ioni moraju nakupljati u vakuoli. Proces nakupljanja (akumulacije) iona u vakuoli predstavlja aktivni transport uz utrošak energije ATP-a, jer se odvija suprotno elektrokemijskom gradijentu.

11.5. Stres uzrokovan nedostatkom kisika

Za rast korijenova sustava vrlo je važna struktura tla, odnosno optimalan sadržaj vode i zraka (optimalni vodozračni odnos) u tlu. Tla povoljne strukture omogućuju difuziju kisika do dubine od nekoliko metara. Zbog toga je korijen najčešće dovoljno opskrbljen kisikom za normalno funkcioniranje procesa disanja. Međutim, u određenim uvjetima kao što su poplave, stagnirajuća voda ili pretjerano navodnjavanje pore tla postaju ispunjene vodom, a voda istiskuje zrak te s njim i kisik. Difuzija kisika u vodi vrlo je spora te u takvim uvjetima samo plitki sloj tla od

nekoliko centimetara sadrži dovoljno kisika. Pojava stagnirajuće vode na tlu ili obilnih trajnih kiša često se javlja u hladnijem dijelu godine. Pri niskim temperaturama biljni se metabolizam usporava te korijen ima niže zahtjeve za kisikom, a oštećenja izazvana nedostatkom kisika sporije se razvijaju. Međutim, pri višim temperaturama (iznad 20 °C) korijen troši velike količine kisika, a uz to se ubrzavaju i mikrobiološki procesi u tlu (koji također troše kisik), što dovodi do vrlo brze potrošnje kisika iz tla.

Anaerobni uvjeti u tlu izazivaju niz negativnih mikrobioloških procesa. Primjerice, **denitrifikaciju** – proces redukcije nitrata (NO_3^-) preko nitrita (NO_2^-) i dušikova oksida (N_2O) do molekularnog dušika, tj. plinovitog dušika (N_2); **redukciju željeza** – redukcija Fe^{3+} u Fe^{2+} koji može postati toksičan za korijen; **redukciju sulfata** – redukcija SO_4^{2-} do toksičnog sumporovodika (H_2S).

Pri stresu nedostatka kisika razlikujemo dva pojma: **hipoksija**, koja opisuje smanjenu dostupnost kisika u tlu, i **anoksija**, koja opisuje stanje potpunog nedostatka kisika. Čak i prije potpunog nedostatka kisika (anoksije), u uvjetima hipoksije dolazi do promjena metabolizma korijena. Kritični parcijalni tlak kisika (critical oxygen pressure ili COP) predstavlja tlak kisika pri kojem dolazi do usporavanja procesa disanja zbog nedostatka kisika. COP ovisi o vrsti tkiva korijena.

Najveće potrebe za kisikom imaju brzorastuća tkiva korijena (meristemi) jer su metabolički procesi u tim tkivima najaktivniji. Nadalje, COP ovisi i o temperaturi te je niži pri nižim temperaturama jer je metabolizam korijena usporen.

Bez prisutnosti kisika u stanicama dolazi do inhibicije respiracije. Točnije, zaustavlja se transportni sustav elektrona u mitohondriju i oksidativna fosforilacija. Zaustavlja se i Krebsov ciklus (***Poglavlje 7.***), a proizvodnja ATP-a moguća je samo pomoću fermentacije. Dakle, u uvjetima nedostatka kisika piruvat nastao glikolizom ulazi u mliječno kiselo vrenje gdje uz djelovanje laktat dehidrogenaze nastaje laktat. Međutim, laktat zakiseljava citosol (snižava pH vrijednost), a u takvim se uvjetima inhibira rad laktat dehidrogenaze, a aktivira rad piruvat dekarboksilaze.

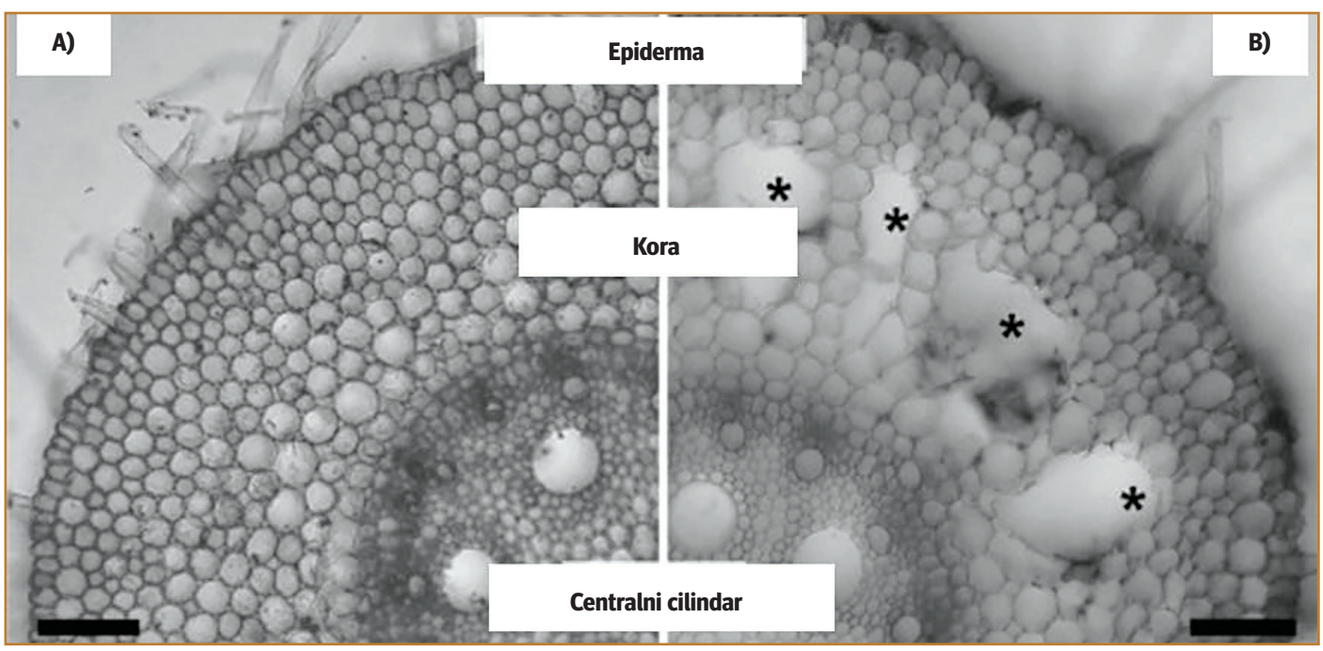
Stoga se mliječno kiselo vrenje zaustavlja, a započinje alkoholno vrenje. Neto dobit od fermentacije je dva ATP-a po molu heksoze (glukoze), što je vrlo malo u usporedbi s aerobnom oksidacijom kojom nastaje 36 ATP-a. U normalnim (aerobnim) uvjetima pH vrijednost citosola je znatno viša (7,4) u odnosu na pH vrijednost vakuole (5,8). Međutim, pri nedostatku kisika dolazi do acidifikacije citosola, djelomično zbog mliječno kiselog vrenja, a djelomično zbog nedostatka ATP-a koji je potreban za kontinuirano održavanje ovakve pH ravnoteže, odnosno crpljenje H^+ iona iz citosola u vakuole i izvanstanični prostor.

Zakiseljavanje citosola dovodi do ireverzibilnih promjena metabolizma stanice i do njene smrti u uvjetima nedostatka kisika te mehanizmi kojima se ovaj proces usporava zapravo predstavljaju mehanizme kojima biljke toleriraju uvjete nedostatka kisika.

Oštećenja korijena koja se javljaju pri nedostatku kisika utječu i na nadzemne organe, zbog toga što korijenje nema dovoljno energije za održavanje životnih procesa u nadzemnim organima. Takvo korijenje slabije usvaja vodu i hranjiva te gubi mogućnost njihova transporta u ksilem. Stoga dolazi do ubrzanog starenja lišća.

Hipoksija ubrzava sintezu ACC-a (1-aminociklopropan-1-karboksilne kiseline), koji je prekursor sinteze etilena. ACC se iz korijena ksilemom transportira u nadzemne organe, gdje se u kontaktu s kisikom pretvara u etilen te dolazi do epinastijskog savijanja listova (***vidi poglavlje 9.4.1.***).

Kod biljnih vrsta vlažnih staništa, ali i kod mnogih biljnih vrsta koje se dobro prilagođavaju vlažnim staništima



Slika 11.1. Aerenhimsko tkivo. A) korijen razvijen pri normalnoj opskrbljenosti kisikom i B) korijen u uvjetima anoksije. Zvjezdicama su prikazana područja u kori korijena ispunjena zrakom

u uvjetima hipoksije razvija se posebno tkivo koje omogućuje izmjenu plinova između korijena i nadzemnih organa. To se tkivo naziva **aerenhim** (**Slika 11.1.**), a sastoji se od dugačkih longitudinalnih kanala ispunjenih zrakom. Zrak iz atmosfere ulazi u aerenhim putem puči ili lenticela (na drvetu ili korijenu) te se plinovi izmjenjuju difuzijom.

Stvaranje aerenhima zapravo je tip programirane smrti stanica koju potiču uvjeti hipoksije. Kao što smo već naveli, tijekom hipoksije stimulirana je sinteza ACC-a i etilena. Visoke koncentracije etilena izazivaju smrt i razgradnju stanica kore korijena na mjestima kojih nastaju šupljine ispunjene zrakom.

Uz stvaranje aerenhima, aklimatizacija na nedostatak kisika vezana je uz aktivaciju gena koji omogućuju sintezu određenih proteina, enzima potrebnih za alkoholnu fermentaciju (stvaranje ATP-a) te transportera koji će izbacivati laktat iz stanice (usporavanje zakiseljavanja citosola).

Popis literature

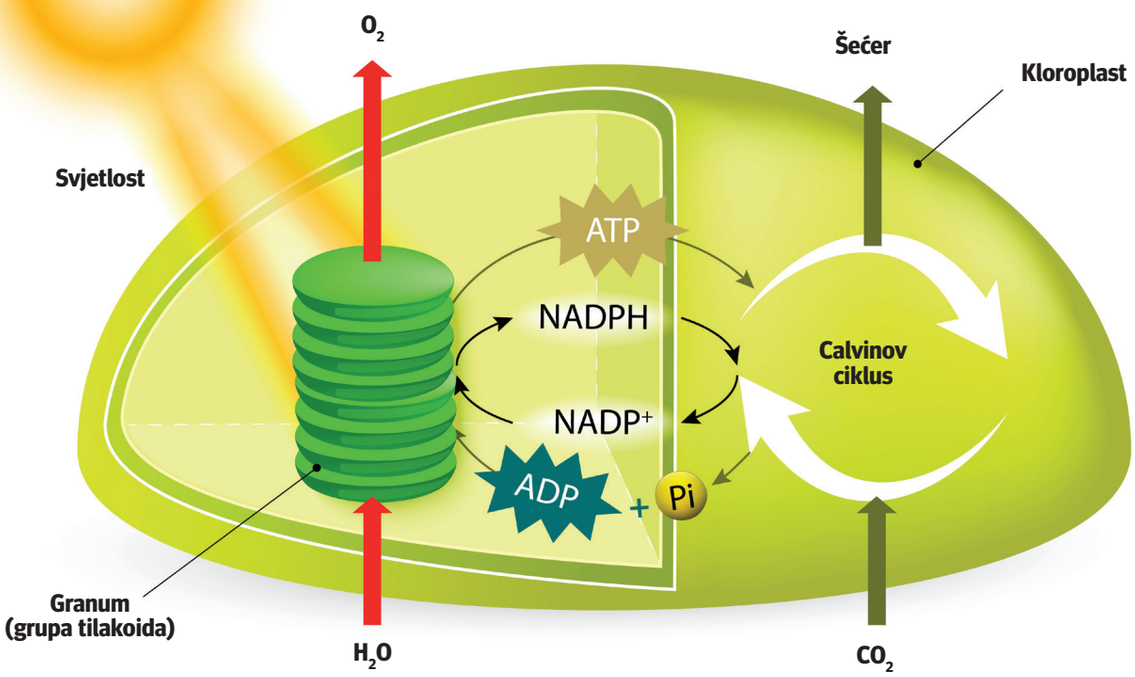
1. Evert, R. F. i Einchhorn, S. E. (2006). Esau's Plant Anatomy. Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function, and Development, 3rd Edition. John Wiley and Sons, Inc. ISBN: 978-0-471-73843-5
2. Marschner, H. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plants, Second Edition. Academic Press. ISBN-10: 0124735436
3. Pevalek-Kozlina, B. (2003). Fiziologija bilja, Sveučilište u Zagrebu, Profil, Zagreb.
4. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
5. Taiz, L. i Zeiger, E. (2006). Plant Physiology 4th edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938567

Izvori slika

1.1. http://www.bio.miami.edu/dana/226/226F09_5.html
1.2. Australian society of plant scientists: https://www.asps.org.au/research/cell-biology
1.3. http://plantsinaction.science.uq.edu.au/book/export/html/227
1.4. http://bio1151.nicerweb.com/Locked/media/ch05/phospholipid.html
1.5. Molecular expressionsTM: http://micro.magnet.fsu.edu/cells/animals/nucleus.html
1.6. Molecular expressionsTM: https://micro.magnet.fsu.edu/cells/mitochondria/mitochondria.html
1.7. Encyclopedia Britannica: https://www.britannica.com/science/stroma-in-chloroplast
1.8. http://plantcellcrk.weebly.com/vacuole.html
1.9. https://www.broadinstitute.org/files/blog/images/2011/Polysome_v2C_300pxpng
1.10. http://jrobinsonjparletteorganelles.weebly.com/golgi-apparatus--er.html
1.11. Copyright 2001. Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman Inc.: https://www.pinterest.com/kajeth/cells/
1.12. Copyright 2001. Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman Inc.: https://www.pinterest.com/kajeth/cells/
1.13. http://biogeonerd.blogspot.hr/2014/09/plant-cell-wall-synthesis.html
1.14. https://sites.google.com/site/cellproject12345/cell-wall-information
2.1.; 2.2.; 2.3.; 2.4.; 2.5.; 2.6.; 2.7.; 2.8.; 2.8.; 2.9.; 2.10; 2.11.; 2.12.; 2.13.; 2.14.; 2.15.; 2.16. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
4.1. http://www.accessexcellence.org/RC/VL/GG/passActiveTrans.html
4.2. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
4.3. https://www.pinterest.com/samanthahestad/biology-eoc-prep/
4.4. https://buffonescience9.wikispaces.com/UNIT+1+-+Basics+of+Life
5.1. Vlastita skica
5.2. Philip Ronan, Gringer - File:EM spectrum.svg and File:Linear visible spectrum.svg: http://sob.nao-rozhen.org/content/green-flash-phenomenon
5.3. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
5.4. https://johnnydissidence.wordpress.com/tag/chlorophyll/
5.5. http://www2.mcdaniel.edu/Biology/botf99/photo/l4ightrx.html
5.6. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
5.7. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
5.8. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1997/press.html
5.9. https://www.boundless.com/biology/textbooks/boundless-biology-textbook/photosynthesis-8/the-light-independent-reactions-of-photosynthesis-82/the-calvin-cycle-377-11603/images/fig-ch08_03_02/
5.10. Horton R. A, Moran L. A., Scrimgeour G., Perry M., Rawn, D. (2006). Principles of Biochemistry, 4th edition. Pearson Prentice Hal, Inc. ISBN-10: 0131453068

5.11. https://www.cliffsnotes.com/study-guides/biology/biochemistry-ii/photosynthesis/photorespiration
5.12. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
5.13. https://www.slideshare.net/veneethmathew/10-lecture-photosynthesis
5.14. https://www.slideshare.net/TheresaIanaTan/crassulacean-acid-metabolism-cam-pathway-9394337
6.1. http://biology-igcse.weebly.com/distribution-of-xylem-and-phloem-in-roots-stems-and-leaves.html
6.2.; 6.3.; 6.4. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
6.5.; 6.6. Pearson Education, Inc., 2011. Pearson Benjamin Cummings
6.7. https://www.studyblue.com/notes/note/n/biology-water-and-sugar-transport/deck/5888708
7.1. https://www.pinterest.com/pin/288518723729137O/
7.2. https://biochemaholic.wordpress.com/tag/glucose/
7.3. https://www.pinterest.com/explore/acetyl-coa/
7.4. https://userscontent2.emaze.com/images/3b89088e-e21d-4107-88e6-497a81347e0e/052321b6-3233-4dbd-ad4c-7762d4a4f063.png
7.5. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
8.1. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
8.2. http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/369/1648/20130348
8.3. http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~hirokazu.tanaka/toppage-EN.html
8.4. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
8.5. http://brittanyrickardbiology.blogspot.hr/2014_12_01_archive.html
8.6. http://images.norwichresearchpark.ac.uk/imagedetails.aspx?imgid=126
9.1. https://www.slideshare.net/morshedpstu/plant-growth-regulators-44336419
9.2. https://www.slideshare.net/morshedpstu/plant-growth-regulators-44336419
9.3. Vlastita skica
9.4.; 9.5. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, assachusetts. ISBN-10: 0878938230
9.6. http://biology-igcse.weebly.com/auxins.html
9.7.; 9.8. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
9.9. http://www.tutorvista.com/content/biology/biology-iv/plant-growth-movements/gibberellins.php
9.10. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
9.11. https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/Agrobacterium/Alyssa_Collins_profile.htm
9.12.; 9.13. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
9.14. mpbio.com/product.php?pid=02190673&country=223
9.15. http://elblogdegeorgia.blogspot.hr/2010/07/fitohormas.html
9.16. http://mutants.maizegdb.org/doku.php?id=viviparous
10.1. Vlastita skica
10.2. A) http://shelbyabio4.blogspot.hr/2013/11/tropisms.html
10.2. B): http://www.alamy.com/stock-photo-gravitropism-geotropism-in-a-raphanus-seedling-10347736.html
10.2. C) http://dennayakumara.blogspot.hr/2014_10_01_archive.html
10.3. Taiz, L. i Zeiger, E. (2002). Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. ISBN-10: 0878938230
11.1. Shiono, K., Takahashi, H., Colmer, T. D., Nakazano, M. (2008). Role of ethylene in acclimations to promote oxygen transport in roots of plants in waterlogged soils. Plant Science 175(1):52-58

FOTOSINTEZA



Bilješke

Bilješke

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
Zavod za ishranu bilja