

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

Б1.В.04 Физиология растений с основами биохимии

Направление подготовки 35.03.01 Лесное дело

Профиль подготовки Лесное хозяйство

Форма обучения очная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций **Контрольные вопросы:**
- 1.1. Л-1 Физиология растений как наука. Структурная организация растительной клетки
- 1.2. Л-2 Физиологические и химические свойства клетки
- 1.3. Л-3 Поглощение, транспорт и выделение воды растением
- 1.4. Л-4 Значение воды для формирования лесных насаждений
- 1.5. Л-5 Современная теория фотосинтеза
- 1.6. Л-6 Фотосинтез как основа продуктивности лесных насаждений
- 1.7. Л-7 Современная теория дыхания и роль дыхания в производственном процессе растений
- 1.8. Л-8 Элементы питания и их поступление в растение (По интерактивной форме)
- 1.9. Л-9 Обеспечение растений питательными веществами в лесных насаждениях
- 1.10. Л-10 Физиологические основы роста и развития растений
- 1.11. Л-11 Особенности роста растений в фитоценозе
- 1.12. Л-12 Физиология формирования генеративных органов
- 1.13. Л-13 Превращение органических веществ в растениях
- 1.14. Л-14 Физиологические основы устойчивости растений (часть 1)
- 1.15. Л-15 Физиологические основы устойчивости растений (часть 2)
- 1.16. Л-16 Устойчивость растений к абиотическим и биотическим факторам внешней среды
- 1.17. Л-17 Жизнь древесных растений в крупном городе
2. Методические указания по выполнению лабораторных работ
- 2.1. ЛР-1 Получение искусственной «клеточки Траубе». Получение искусственной клеточки из коллоидия.
- 2.2. ЛР-2 Плазмолиз и деплазмолиз растительной клетки. Влияние анионов и катионов солей на форму и время плазмолиза.
- 2.3. ЛР-3 Определение содержания воды и водного дефицита в растительном организме.
- 2.4. ЛР-4 Определение интенсивности транспирации и относительной транспирации весовым методом.
- 2.5. ЛР-5 Пигменты листа и их свойства.
- 2.6. ЛР-6 Определение интенсивности дыхания по количеству выделенного CO₂
- 2.7. ЛР-7 Определение содержания золы в различных частях растений.
- 2.8. ЛР-8 Микрохимический анализ золы растений.
- 2.9. ЛР-9 Определение жизнеспособности семян методом окрашивания.
- 2.10. ЛР-10 Определение жизнеспособности семян по скорости набухания.
- 2.11. ЛР-11 Получение раствора растительного белка и изучение его свойств.
- 2.12. ЛР-12 Обнаружение запасных веществ.
- 2.13. ЛР-13 Определение солеустойчивости растений по прорастанию семян в солевых растворах.
- 2.14. ЛР-14 Определение жаростойкости растений.
- 2.15. ЛР-15 Оценка засухоустойчивости растений по соотношению различных форм воды в листьях.
- 2.16. ЛР-16 Выявление защитного действия сахаров на протоплазму.
- 2.17. ЛР-17 Оценка кислотоустойчивости растений
3. Методические указания по проведению практических занятий
Не предусмотрено РУП.
4. Методические указания по проведению семинарских занятий
Не предусмотрено РУП.

1. КОНСПЕКТЫ ЛЕКЦИЙ

Лекция 1. Физиология растений как наука. Структурная организация растительной клетки

Контрольные вопросы:

Основные вопросы:

Физиология растений - наука о жизнедеятельности
растительного организма

Курс физиологии растений справедливо считают одним из самых сложных и трудных среди биологических дисциплин.

Растения отличаются от других организмов автотрофным питанием, которое основано на использовании энергии света, наличием у клеток плотных состоящих в основном из целлюлозы оболочек. Ж. Б. Ламарк первым выделил способ питания в качестве главного отличительного признака растений и животных. Кроме того, растения не способны к мгновенному сокращению своих твердых частей и к произвольному перемещению с одного места на другое.

Физиология растений - интенсивно развивающаяся наука, о чем свидетельствуют многочисленные научные общества, издания, симпозиумы и конференции.

История становления физиологии растений как науки

Трудно выделить какую-либо из работ прошлого в области биологии, которая легла бы в основу физиологии растений. В.В. Полевой, автор базового учебника по физиологии растений, в качестве таковой рассматривает работу Я.Б. Ван Гельмонта (1634), в которой ученый сделал вывод о том, что вода используется для построения органической массы растения. В большинстве учебников становление физиологии растений как самостоятельной науки относят к 18 веку.

В 1727 г. С. Гейлс установил, что движение воды по растению вызывают корневое давление и транспирация. В 1771 г. Дж. Пристли открыл способность зеленых растений выделять на свету кислород. В 1782 г. Ж. Сенебье назвал поглощение CO₂ на свету «углекислотным дыханием». В 1797-1804 гг. Н. Т. Соссюр открыл дыхание у растений и рассчитал баланс газов при фотосинтезе. В 1800 г. Ж. Сенебье опубликовал пятитомный трактат «Physiologie vegetale», в котором впервые определил физиологию растений как самостоятельную науку, собрал, обработал и осмыслил известные к тому времени данные, сформулировал основные задачи физиологии растений, определил ее предмет и используемые методы.

В России основателем физиологии и биохимии растений справедливо считается Андрей Сергеевич Фаминцын (1835-1918) - автор первого учебника (1887), создатель первой университетской кафедры и академической лаборатории физиологии растений (1889), которая в последующем была преобразована в Институт физиологии растений. А.С. Фаминцын основал ряд направлений в области эволюционной физиологии и биохимии растений. Наиболее известны его взгляды на симбиотическую эволюцию, единство принципов жизнедеятельности растительных и животных организмов.

Список имен известных ученых-физиологов растений с кратким указанием тем и направлений их работы мог бы составить несколько сотен страниц.

Предмет, цели и задачи курса

Физиология растений изучает общие закономерности жизнедеятельности растительных организмов и является частью биологической науки. Цель дисциплины «Физиология растений» - раскрыть сущность этих процессов, показать пути их регуляции и управления. «Физиолог не может довольствоваться пассивной ролью наблюдателя, как экспериментатор, он является деятелем, управляющим природой», - писал К. А. Тимирязев.

Студенты-биологи, используя свою физико-математическую и физико-химическую подготовку, должны на основе лекционного курса, лабораторных занятий и самостоятельной работы вникнуть в суть основных физиологических процессов растений, быть в курсе современных тенденций развития науки и ее достижений. Курс

«Физиология растений» предполагает формирование у студентов общенаучных, профессиональных и инструментальных компетенций.

Контрольные вопросы: исследования

Исследователю в области физиологии растений приходится решать задачи количественного определения показателей роста и развития растений, энергетического и пластического обмена (фотосинтеза и дыхания), водного и минерального обмена и др. на разных уровнях организации живой материи. В арсенал современных методов входят методы культивирования растений, спектрофотометрические методы, оптико-акустические, хроматографические, электрохимические, методы световой и электронной спектроскопии и мн. др.

Место физиологии растений в системе биологических наук

Физиология растений наравне с ботаникой является основополагающей наукой при изучении растительного мира. Сравнительная физиология растений выполняет связующую роль между царством растений и животных. Структурной единицей, позволяющей производить сравнение функций различающихся живых систем, является клетка с ее внутренней организацией, особенностями хранения и передачи наследственной информации.

Основные направления современной физиологии растений сформировались в конце XIX - начале XX вв. Среди них: фотосинтез (Ж. Б. Буссенго, Ю. Сакс, А. С. Фаминцын, К. А. Тимирязев, М. С. Цвет, М. Ненцкий, Л. Мархлевский, А. Н. Бах); дыхание (А. С. Фаминцын, И. П. Бородин, Л. Пастер, А. Н. Бах, Г. Э. Берtrand); водный режим (Г. Дютроше, Г. де Фриз, Ю. Сакс); минеральное питание (Ю. Либих, Ж. Б. Буссенго, Г. Гельригель, И. Кноп, С. Н. Виноградский, М. В. Бейеринк, Д. Н. Прянишников); транспорт веществ (В. Пфеффер, Е. Ф. Вотчал); рост и развитие (Ю. Сакс, А. С. Фаминцын, О. В. Баранецкий, А. Ф. Баталин, Н. Ф. Леваковский, Г. Фехтинг, Г. Клебс); движение растений (Т. Найт, Ю. Сакс, Ч. Дарвин, Ю. Визнер, В. А. Ротерт, В. Пфеффер); раздражимость (Б. Сандерсон, Ч. Дарвин, Н. Ф. Леваковский); устойчивость растений (Д. И. Ивановский, К. А. Тимирязев, Г. Молиш); эволюционная физиология растений (Ч. Дарвин, К. Бернар, А. С. Фаминцын, К. А. Тимирязев).

В XX веке возникли новые направления: биохимия, биотехнология, молекулярная биология растений, генная инженерия, биофизика растений, эволюционная и экологическая физиология растений. Наблюдается определенная дифференциация науки на молекулярное и экологическое направления. Научный рынок труда уже сейчас нуждается в специалистах в области физиологии растений, о чем свидетельствуют объявления в зарубежных изданиях о вакансиях.

Основой для развития физиологии растений в СССР послужили труды К. А. Тимирязева, В. И. Палладина, С. П. Костычева и др. Плодотворно изучались зимостойкость, засухо- и солеустойчивость растений (Н. А. Максимов, И. И. Туманов, П. А. Генкель и др.). Успешной была разработка теоретических основ питания растений в связи с проблемой повышения урожайности (Д. Н. Прянишников, Д. А. Сабинин, Я. В. Пейве и др.). Начиная с 50-х гг. XX века на первое место вышли исследования обмена веществ и тонкой электрон-микроскопической организации клеток.

Сделан вклад в выяснение фотохимической стадии фотосинтеза, обнаружение разнокачественности его продуктов, выяснение путей биосинтеза фотосинтетических пигментов, а также в создание теории, связывающей фотосинтетическую деятельность растений с их продуктивностью (А. А. Рихтер, А. А. Ничипорович, Т. Н. Годнев, А. А. Красновский, А. А. Шлык, В. Б. Евстигнеев и др.). Ведутся работы по выяснению физиологических и биохимических основ дыхания, азотистого обмена, транспорта метаболитов, биосинтеза веществ вторичного происхождения (А. Л. Курсанов, М. Н. Запрометов, О. В. Заленский, Б. А. Рубин). Есть успехи в изучении факторов, определяющих рост и развитие растений, фотопериодизма, гормональных систем (М. Х.

Чайлахян, О. Н. Кулаева и др.). В 70-х гг. в результате использования культуры растительных тканей были получены новые гибридные формы растений табака (Р. Г. Бутенко). Метод, обозначенный как **Контрольные сопротивления** протопластов двух клеток, открыл новые возможности преодоления несовместимости растительных тканей и получения отдалённых гибридов. Неоценимый вклад в развитие физиологии растений и подготовку нового поколения физиологов растений сделал Всеволод Владимирович Полевой (1931-2001) - крупнейший ученый, ведущий физиолог, биохимик и биофизик растений.

Состояние науки на рубеже двух тысячелетий обсудили участники IV съезда Общества физиологов России (Москва, 1999). Президент Общества академик А.Т. Мокроносов обратился к делегатам съезда со словами:

«Дорогие коллеги!

Приближается 200-летний юбилей физиологии растений. За этот период она накопила огромный материал по физико-химической организации, интеграции, саморегуляции функциональных систем и адаптации растительного организма и стала теоретической основой высокоэффективного земледелия. Вместе с другими биологическими науками физиология растений стала фундаментальной основой трех “зеленых революций”, каждая из которых приводила к удвоению урожая....

XXI век мы встречаем на пороге новой постгеномной эры в биологии. Ее появление обязано стремительным успехам в дешифровке первичной структуры ДНК, в создании рекомбинантных молекул и в развитии генной инженерии. В наши дни секвенирование нуклеиновых кислот стало хотя и дорогим, но тривиальным и рутинным делом. Оно приобрело форму товарного продукта, интерес к которому интенсивно растет. В 2004 г. будет полностью секвенирован геном первого высшего организма - растения араби- дописца. Когда первичная структура генома будет записана в цифровой или иной системе, когда разрыв между потоком информации и уровнем его осмысления достигнет угрожающих размеров, неизбежно встанет ключевой вопрос гносеологии: “Ну и что?”. На поставленный вопрос суждено ответить лишь наукам синтетическим, таким, как физиология, способным к интеграции сложных структур и систем, вплоть до процессов дифференцировки клеток.

Не исключено, что широкие возможности генной инженерии станут базой для новых “зеленых революций”. Однако прежде чем это произойдет, должен быть просчитан возможный риск от массового распространения рекомбинантных технологий .. Вполне вероятно, что наши дети познакомятся с последствиями освобождения “геномного джинна” уже в середине XXI века.

Важно отметить еще одну существенную смену ориентиров, которая произошла в 50-х годах XX столетия. До этого времени абсолютным приоритетом физиологии растений являлась разработка теории продуктивности сельскохозяйственных культур. Однако сегодня уровень знаний и технологий настолько высок, что величина и качество урожая лимитируются не развитием фундаментальной науки, а факторами экономического и социального характера.

Начиная с 50-60-х годов все более приоритетными для физиологии становятся проблемы локальной, региональной и глобальной экологии. Предстоит на физико-химической основе расшифровать последовательность всех этапов адаптационного синдрома растений применительно к множеству природных и техногенных стрессоров. Потребуется поиск методов и технологий решения различных проблем промышленной экологии, включая зоны экологических катастроф. Физиологии растений предстоит внести свой вклад в исследование биологического разнообразия, сохранение и изучение природных экосистем, таких как сибирская тайга, полярная тундра, джунгли Юго-Восточной Азии и уникальная экосистема Амазонии... Поведение рас- тения в нестабильной среде станет центральной проблемой экологической физиологии предстоящего столетия.

Нет сомнения, что физиология растений в III тысячелетии будет, по-прежнему, играть ключевую роль в исследовании жизни зеленого растения, будет активно востребована человеческой цивилизацией и займет свое достойное место в поддержании стабильного состояния биосферы и ноосферы, а также в глобальной информационной паутине Интернета и компьютерных технологий и их оптимального использования. Решение столь необычных по своим масштабам и сложности проблем во многом будет определяться объединением усилий и тесной координацией физиологов растений и специалистов смежных наук».

Прогнозы А.Т. Мокроносова полностью подтвердились. На очередном, шестом, съезде Общества физиологов растений России (Сыктывкар, 2007) были представлены следующие направления: энергетика и метаболизм растительной клетки; геном растений и регуляция его экспрессии; гормоны и онтогенез; стресс, адаптации и выживание растений; физиология фотосинтеза и глобальная экология; клеточная биология и биотехнология, биология трансгенных растений; производственный процесс; преподавание физиологии и биохимии растений. Их можно сгруппировать в три модуля: 1 - изучение закономерностей жизнедеятельности растений (механизмы питания, роста, движения, размножения и др.); 2 - разработка теоретических основ получения максимальных урожаев сельскохозяйственных культур; 3 - разработка установок для осуществления процессов фотосинтеза в искусственных условиях.

Первый модуль заложен в определении самой физиологии растений. Второй модуль по-прежнему остается наиболее актуальным, так как рост населения нашей планеты и сокращение посевных площадей оставляют лишь один путь - путь интенсификации сельскохозяйственного производства не только пищевых, технических, лекарственных и декоративных культур, но и растений для получения топлива. Третий в настоящее время кажется фантастическим. Однако вряд ли люди, овладев тайнами, не попытаются осуществить эти процессы в лабораторных, а затем в промышленных установках.

Место зеленого растения в экономике природы

Автотрофные растения Мирового океана за год способны превращать в органическое вещество $20-155 \cdot 10^9$ т углерода. Наземные растения фиксируют $16-24 \cdot 10^9$ т углерода. Для сравнения в угольном эквиваленте ежегодно на Земле освобождается $3-4 \cdot 10^9$ т углерода. Ежегодная продукция кислорода составляет 10^{11} тонн. На протяжении миллиардов лет в атмосфере Земли сформировалось равновесие кислорода (20 %) и углекислого газа (0,033 %). Ежегодно регистрируется увеличение концентрации углекислого газа на 1,5 % от исходного значения.

Население Земли и энергетические (пищевые) ресурсы

Объем производимой растениями биомассы распределяется между водорослями и наземными растениями. Только наземные растения накапливают ежегодно в форме углеводов 5-10 ккал. Даже 1 % этой энергии достаточно для питания 5 млрд. человек. Тем не менее, рост населения Земли и рост энергопотребления может нарушить исторически сложившийся баланс вещества и энергии в биосфере.

Л-2 Физиологические и химические свойства клетки

Основные вопросы

Общая схема организации растительной клетки

Высшие растения являются многоклеточными организмами, состоящими из множества клеток, выполняющих специализированные функции. Несмотря на то, что дифференцированные клетки могут сильно отличаться друг от друга, все они как клетки эукариотического организма имеют ядро, цитоплазму, ряд клеточных органелл и систему мембран, которая не только отделяет клетку от окружающей среды, но и разделяет на компартменты ее внутреннее содержимое.

Специфической особенностью строения растительной клетки является наличие системы пластид, крупной центральной вакуоли, а также прочной биополисахаридной

клеточной стенки. Растительная клетка содержит три относительно автономные, но тесно взаимодействующие генетические системы: ядерную, митохондриальную и пластидную. Для **Контрольные вопросы:** характерен особый тип роста - рост растяжением. У делящихся растительных клеток отсутствуют центриоли.

Поскольку клеточные стенки клеток одной ткани или органа непосредственно контактируют друг с другом, то возникает единая система клеточных стенок, которая называется *апопластом*.

Протопласты растительной клетки через поры клеточных стенок связаны между собой плазмодесмами, которые соединяют их в цитоплазматическое целое - *симпласт*. Каждая плазмодесма представляет собой тяж гиалоплазмы, окруженный плазмалеммой, центральную часть которого занимает десмотрубка, которая связывает эндоплазматический ретикулум соседних клеток. Непрерывную систему эндоплазматического ретикулума растения называют *эндопластом*.

Таким образом, растительный организм представляет собой единую систему дифференцированных клеток, выполняющих определенные функции и имеющих обусловленные этими функциями особенности строения. Диффе-ренцировка клеток обусловлена изменением активности генома клетки, эк-прессией одних генов и подавлением активности других. Специфической особенностью растительных клеток является totипотентность - способность к дедифференцировке и реализации всей имеющейся в клетке генетической информации, способность дедифференцированной клетки дать начало новому организму. Дифференцированные животные клетки, как правило, totipo-тентностью не обладают.

Методы исследования растительных клеток

Основными методами изучения структуры растительной клетки являются методы визуального наблюдения с помощью увеличительных приборов.

Световая микроскопия - изучение объекта с использованием световых микроскопов. Так как в этих оптических приборах используются источники видимого света (400-700 нм), они повышают разрешающую способность человеческого глаза в 1000 раз, что позволяет видеть объекты величиной 0,2-0,3 мкм. Метод «темного поля» позволяет различать объекты величиной менее 0,2 мкм.

Фазово-контрастная, интерференционная и поляризационная микроскопия позволяют изучать детальную структуру живых клеток.

С помощью световой микроскопии можно увидеть многие органоиды клетки: клеточную стенку, ядро, хлоропласти, митохондрии.

Электронная микроскопия - изучение ультраструктуры клеток, зафиксированных специальным образом. Разрешающая способность электронных микроскопов - 0,1 нм.

Электронная микроскопия позволяет изучать особенности мембранных структур органоидов, зависимость их изменений от влияния различных факторов.

Основные закономерности поглощения воды клеткой

Поглощение воды из внешней среды - обязательное условие функционирования любого живого организма. Вода может поступать в клетки растений за счет набухания биоколлоидов, увеличения степени их гидратации. Этот процесс характерен для сухих семян при помещении их во влажную среду (для прорастания). В основе перемещения молекул - диффузия, т. е. процесс, ведущий к равномерному распределению молекул газов или растворенного вещества и растворителя благодаря их постоянному движению. Диффузия всегда направлена от большей концентрации вещества к меньшей.

Оsmос. Растительная клетка как осмотическая система.

Осмотическое и тургорное давление. Сосущая сила

Диффузия воды через полупроницаемую мембрану называется осмосом. Полупроницаемая мембрана - это мембрана, хорошо проницаемая для воды и непроницаемая или плохо проницаемая для растворенных в воде веществ.

Оsmотическая ячейка - это пространство, окруженное полупроницаемой мембраной и заполненное каким-либо водным раствором, способным развивать определенное осмотическое давление.

Контрольные вопросы:

Оsmотическое давление (диффузное давление) - термодинамический параметр, характеризующий стремление раствора к понижению концентрации при соприкосновении с чистым растворителем вследствие встречной диффузии молекул растворённого вещества и растворителя. Если раствор отделен от чистого растворителя полупроницаемой мембраной, то возможна лишь односторонняя диффузия - осмотическое всасывание растворителя через мембрану в раствор. В этом случае осмотическое давление становится доступной для прямого измерения величиной. Оно равно избыточному давлению, приложенному со стороны раствора при осмотическом равновесии.

Оsmотическое давление обусловлено понижением химического потенциала растворителя в присутствии растворённого вещества. Тенденция системы выравнивать химические потенциалы во всех частях своего объёма и переходить в состояние с более низким уровнем свободной энергии вызывает осмотический (диффузионный) перенос вещества. Оsmотическое давление в идеальных и предельно разбавленных растворах не зависит от природы растворителя и растворённых веществ; при постоянной температуре оно определяется только числом «кинетических элементов» (ионов, молекул, ассоциатов или коллоидных частиц) в единице объёма раствора. Оsmотическое давление (P) численно равно давлению, которое оказалось бы растворённое вещество, если бы оно при данной температуре находилось в состоянии идеального газа и занимало объём, равный объёму раствора.

Оsmотическое давление измеряют с помощью специальных приборов (осмометров), определяя избыточное гидростатическое давление столба жидкости в трубке осмометра после установления осмотического равновесия.

Оsmос является основным механизмом поступления воды в растительную клетку.

Все клеточные мембранны, в том числе плазмалемма и тонопласт, являются полупроницаемыми мембранами. Вода проходит в клетку через водные поры в плазмалемме, образованные специальными белками - аквапоринами.

Внутри вакуоли («osмотической ячейки») клеточный сок развивает осмотическое давление π :

$$\pi = i C R T,$$

где C - концентрация раствора в молях; T - абсолютная температура; R - газовая постоянная $0,082 \text{ л} \times \text{атм}/\text{град} \times \text{моль}$; i - изотонический коэффициент, равный $1 + a(n-1)$.

Значение i находится так:

$$i = 1 + a(n-1),$$

где a - степень электролитической диссоциации; n - число ионов, на которые распадается молекула электролита.

Благодаря осмотическому притоку воды в клетку там возникает гидростатическое давление, называемое тургорным. Это давление прижимает цитоплазму к клеточной стенке и растягивает ее. Клеточная стенка имеет ограниченную эластичность и оказывает равное противодавление. Эластическое растяжение ткани благодаря тургорному давлению ее клеток придает твердость неодревесневшим частям растений. Завядающие побеги становятся дряблыми, так как при потере воды тургорное давление падает. Тургорное давление противодействует притоку воды в клетку.

Давление, с которым вода осмотически притекает в клетку, равно, таким образом, разности осмотического давления π и тургорного давления P . Эту величину называют сосущей силой S :

$$S = \pi - P.$$

Вода поступает в клетку из внешнего раствора, если его потенциальное осмотическое давление a_w выше силы клетки, и, наоборот, вода выходит из клетки в раствор с более высоким потенциальным осмотическим давлением.

Химический потенциал воды и водный потенциал клетки

При термодинамической трактовке сосущая сила заменяется водным потенциалом u_w . Водный потенциал можно определить как работу, необходимую для того, чтобы поднять потенциал связанной воды до потенциала чистой, то есть свободной, воды. Термин «водный потенциал» не совсем точен. Правильнее, но менее употребителен термин «разность потенциалов воды», поскольку он определяет разность химических потенциалов воды в системе $|a_w$ (например в вакуоли) и чистой воды u_w при атмосферном давлении. Абсолютные значения $|a_w$ и $|a_{ow}$ неизвестны, но их разность можно определить. Она всегда отрицательна. Потенциал воды в растворе, растении, почве и атмосфере меньше нуля. Потенциал чистой воды равен нулю.

Можно также заменить u и P на потенциалы, а именно на осмотический потенциал (отрицательный) и потенциал давления u_p (как правило, положительный). В таком случае осмотическое уравнение превращается в уравнение потенциала воды:

$$u_w = - \cdot V_p \quad (\text{размерность бар} = \text{эрг} \times \text{см}^{-3} \times 10^6).$$

Величину осмотического потенциала можно определить плазмолитическим методом. Плазмолиз - это процесс, обусловленный потерей воды клеткой. Он проявляется в отходе протопласта от клеточной стенки. При переносе плазмолизированных тканей в гипотонический раствор (или чистую воду) вода поступает в клетку и происходит деплазмолиз. Количество воды в клетке увеличивается, объем вакуоли возрастает - и она прижимает цитоплазму к клеточной стенке. Плазмолитический метод основан на подборе изоосмотического (изотонического) раствора, то есть имеющего осмотический потенциал, равный осмотическому потенциальному клетки. Раствор, при котором начался плазмолиз, имеет осмотический потенциал, примерно равный осмотическому потенциальному клетки. Зная концентрацию наружного раствора в молях, можно вычислить осмотический потенциал клетки.

Иногда при сильном завядании протопласт не отстает от клеточной стенки, как при плазмолизе, а сжимается и тянет ее за собой. При этом клеточная стенка прогибается. Это явление называют циторризом. Развивается натяжение (или отрицательное давление стенки) - и потенциал тургорного давления приобретает отрицательное значение. В этом случае величина водного потенциала определяется уже не разностью, а суммой осмотического потенциала и потенциала давления:

$$u_w = - + V_p.$$

Величина осмотического потенциала позволяет судить о способности растения поглощать воду из почвы и удерживать ее, несмотря на иссушающее действие атмосферы. Осмотический потенциал колеблется у разных растений в пределах от -5 до -200 баров. У водных растений осмотический потенциал около -1 бара. У большинства растений средней полосы осмотический потенциал колеблется от -5 до -30 баров, растения степей и пустынь имеют более отрицательный осмотический потенциал. Осмотический потенциал различен и у разных жизненных форм. У деревьев он отрицательнее, чем у кустарников и травянистых растений. У светолюбивых растений осмотический потенциал отрицательнее, чем у теневыносливых растений.

Поступление воды в клетку обусловлено не только осмотическим давлением, но и силой набухания. Набуханием называют поглощение жидкости или пара высокомолекулярным веществом (набухающим телом), сопровождаемое увеличением объема. Явление набухания обусловлено коллоидальными и капиллярными эффектами. В протоплазме преобладает набухание на коллоидальной основе (гидратация коллоидов), а в клеточной стенке наблюдаются оба эффекта: капиллярный - накопление

воды между микрофибрillами и в межмицеллярных пространствах; коллоидальный гидратация полисахаридов, особенно гемицеллюлоз. У некоторых частей растений поглощение воды происходит путем набухания, например у семян.

Благодаря большому сродству набухающего тела к воде при набухании может возникать давление набухания в несколько сотен атмосфер. Силу набухания обозначают термином «матричный потенциал» u_x .

Таким образом, для клетки характерны следующие уравнения водного потенциала:

$$\text{вакуоль: } -u_w = -u_n - u_v;$$

$$\text{протоплазма: } -u_w = -u_p - u_r - u_t;$$

$$\text{клеточная стенка: } -u_w = -u_x.$$

Вода в клетку может поступать также в процессе пиноцитоза, когда часть плазмалеммы прогибается внутрь клетки. Внешние края такой инвагинации смыкаются и виде пузырька - везикулы с адсорбированными частицами и внешним раствором, - который проходит внутрь цитоплазмы.

Л-3 Поглощение, транспорт и выделение воды растением

Основные вопросы

Функции и формы воды в растениях

Значение воды для жизнедеятельности растений

Вода является одной из главных составных частей растений. Ее содержание неодинаково в разных органах растения (так, в листьях салата она составляет 95 %, а в сухих семенах - не более 10 % от массы ткани) и зависит от условий внешней среды, вида и возраста растения. Для своего нормального существования растение должно содержать определенное количество воды, в среднем 75-80 % массы растительной ткани.

Вода - это: 1) среда, в которой протекают процессы обмена веществ;

2) субстрат и продукт биохимических процессов (реакции гидролиза, окисительно-восстановительные реакции); 3) источник кислорода, выделяемого при фотосинтезе, и водорода, используемого для восстановления углекислого газа; 4) основа конформации молекул белка; 5) основа устойчивости структур цитоплазмы и оболочки клеток в упругом состоянии; 6) основа «тургорных» движений частей растений; 7) основа терморегуляции растительного организма.

Свойства воды, обеспечивающие ее функции в растительной клетке: 1) молекула воды представляет собой диполь; 2) благодаря этому молекулы воды могут ассоциировать друг с другом, ионами и белковыми молекулами;

3) вода участвует в поглощении и транспорте веществ, так как является хорошим растворителем; гидратные оболочки, окружающие ионы, ограничивают их взаимодействие; 4) вода обладает высокой теплоемкостью, равной 1 кал/град, что позволяет растению воспринимать изменения температуры окружающей среды в смягченном виде, испарение воды растениями, т. е. транспирация, служит основным средством терморегуляции у растений.

Формы воды в клетке

В клетках и тканях различают две формы воды: прочно связанную (связанную) и рыхло связанную (свободную).

Оsmотически связанная вода гидратирует растворенные вещества - ионы и молекулы; коллоидно связанная вода гидратирует коллоиды (макромолекулы); капиллярно связанная вода связана со структурами клеточных стенок и сосудов за счет сил адгезии.

Связанная вода выполняет структурную функцию, поддерживая структуру коллоидов и обеспечивая функционирование ферментов, органоидов и клетки в целом. Она малоподвижна, не участвует в растворении и транспорте веществ, отличается сниженной температурой замерзания и более высокой температурой кипения по

сравнению со свободной водой.

Свободная вода обладает высокой подвижностью, является растворителем и основным транспортером **Контрольные вопросы**.

Доля связанной воды в клетке составляет около 40 %, доля свободной - около 60 %. При недостатке влаги в первую очередь снижается доля свободной воды.

Корневая система как орган поглощения воды

Водный баланс растений складывается из поглощения, использования и потери воды. Корневая система является органом поглощения воды из почвы. Сформировавшаяся корневая система представляет собой сложный орган с хорошо дифференцированной структурой. Подсчитано, что общая поверхность корневой системы может превышать поверхность надземных органов более чем в 150 раз. Рост корневой системы и ее ветвление продолжаются в течение всей жизни растения.

Поглощение воды и питательных веществ осуществляется в основном корневыми волосками ризодермы. Ризодерма - это однослойная ткань, покрывающая корень снаружи. У одних видов растений каждая клетка ризодермы формирует корневой волосок, у других она состоит из двух типов клеток: трихобластов, образующих корневые волоски, и атрихобластов, не способных к образованию волосков.

Из ризодермы вода попадает в клетки коры. У травянистых растений кора корня обычно представляет собой несколько слоев живых паренхимных клеток. Между клетками имеются крупные межклетники, обеспечивающие аэрацию корня. Через клетки коры возможны два пути транспорта воды и растворов минеральных солей: по симпласту и апопласту. Более быстрый транспорт воды происходит по апопласту.

Затем вода попадает в клетки эндодермы. Эндодерма - это внутренний слой клеток коры, граничащий с центральным цилиндром. Их клеточные стенки водонепроницаемы из-за отложения суберина и лигнина (пояски Кас- пари). Поэтому вода и соли проходят через клетки эндодермы по симпласту и транспорт воды в эндодерме замедляется. Это необходимо, так как диаметр стели (центрального цилиндра), куда попадает вода из эндодермы, меньше всасывающей поверхности корня.

Центральный цилиндр корня содержит перицикл, паренхимные клетки и две системы проводящих элементов: ксилему и флоэму. Клетки перицикла представляют собой одно- или многослойную обкладку проводящих сосудов. Его клетки регулируют транспорт веществ как из наружных слоев в ксилему, так и из флоэмы в кору. Кроме того, клетки перицикла выполняют функцию образовательной ткани, способной продуцировать боковые корни. Клетки перицикла и паренхимные клетки активно транспортируют ионы в проводящие элементы ксилемы. Контакт осуществляется через поры во вторичных клеточных стенках сосудов и клеток. Между ними нет плазмодесм. Затем вода и растворенные вещества диффундируют в полость сосуда через первичную клеточную стенку. Для некоторых паренхимных клеток сосудистого пучка характерны выросты - лабиринты стенок, выстланные плазмалеммой, что значительно увеличивает ее площадь. Эти клетки активно участвуют в транспорте веществ в сосуды и обратно и называются передаточными, или переходными. Они могут граничить одновременно с сосудами ксилемы и ситовидными трубками флоэмы. По сосудам флоэмы транспортируются органические вещества из надземной части растения в корни.

Корневое давление: значение, механизм и методы определения.

Гуттация и плач растений

Вода пассивно диффундирует в сосуды ксилемы благодаря осмотическому механизму. Осмотически активными веществами в сосудах являются минеральные ионы и метаболиты, выделяемые насосами плазмалеммы паренхимных клеток, окружающих сосуды. Сосущая сила у сосудов выше, чем у окружающих клеток из-за повышающейся концентрации ксилемного сока и отсутствия значительного

противодавления со стороны малоэластичных клеточных стенок. В результате поступления воды в сосудах ксилемы развивается гидростатическое давление, получившее название **Контрольные вопросы**. Оно участвует в поднятии ксилемного раствора по сосудам ксилемы из корня в надземную часть растения. Поднятие воды по растению вследствие развивающегося корневого давления называют нижним концевым двигателем.

Проявлением работы нижнего концевого двигателя (корневого давления) служат плач растений и гуттация. Весной у кустарников и деревьев с еще нераспустившимися листьями можно наблюдать интенсивный ксилемный ток снизу вверх через надрезы ствола и веток. У травянистых растений при отрезании стебля из пенька выделяется ксилемный сок, называемый пасокой.

Поступление воды через корневую систему сокращается с понижением температуры. Это происходит по следующим причинам: 1) повышается вязкость воды, и поэтому снижается ее подвижность; 2) уменьшается проницаемость протоплазмы для воды; 3) тормозится рост корней; 4) уменьшается скорость метаболических процессов. Поступление воды снижается при ухудшении аэрации почвы. Это можно наблюдать, когда после сильного дождя почва залита водой, но при ярком солнце из-за сильного испарения растения завядают. Большое значение имеет концентрация почвенного раствора. Вода поступает в корень только тогда, когда водный потенциал корня меньше водного потенциала почвы. Если почвенный раствор имеет более отрицательный потенциал, вода будет не поступать в корень, а выходить из него.

Формы воды в почве. Водные характеристики почвы

По степени доступности для растения различают следующие формы почвенной влаги. Гравитационная вода заполняет промежутки между частицами почвы и хорошо доступна растениям. Однако она быстро испаряется и легко стекает в нижние горизонты почвы под влиянием силы тяжести, вследствие чего бывает в почве лишь после дождей. Капиллярная вода заполняет капилляры в почвенных частицах. Эта вода хорошо доступна для растений, она удерживается в капиллярах силами поверхностного натяжения и поэтому не только не стекает вниз, но и поднимается вверх от грунтовых вод. Пленочная вода окружает коллоидные частицы почвы. Вода из периферических слоев гидратационных оболочек может поглощаться корнями. Гигроскопическая вода адсорбируется сухой почвой при помещении ее в атмосферу с 95 %-ной относительной влажностью. Этот тонкий слой молекул воды удерживается с такой силой, что их водный потенциал достигает 1000 баров и она недоступна для растений.

Способность почвы удерживать воду зависит от ее состава и свойств. Для характеристики максимального запаса почвенной влаги используют понятие «полная полевая влагоемкость» (или «полевая влагоемкость»). Количественно этот параметр отражает количество воды (выраженное в процентах), которое способны поглотить и удержать 100 граммов почвы. Чем больше в почве минеральных (глинистых) и органических (гумуса) частиц, тем выше значение полевой влагоемкости. Так как для нормальной жизнедеятельности корневой системы необходимо некоторое количество кислорода почвенного воздуха, оптимальной для большинства растений считается влажность почвы, равная 60% от полной полевой влагоемкости.

Физиологическая засуха и ее причины. Коэффициент завядания

Количество почвенной воды в процентах, при котором растение впадает в устойчивое завядание, называют коэффициентом, или влажностью, завядания. Завядание растений разных видов может начинаться при одной и той же влажности, но промежуток времени от завядания растения до его гибели (интервал завядания) у растений может быть различным. Так, для растений бобов он составляет несколько суток, а для растений проса - несколько недель. Завядание начинается позже у растений с более отрицательным осмотическим потенциалом и меньшей скоростью транспирации.

«Мертвый запас» влаги в почве - это количество воды, полностью недоступной растению. Он зависит от механического состава почвы. Чем больше глинистых частиц в почве, тем больше **Контрольные вопросы**. Количество доступной для растения воды представляет собой разность между полевой влагоемкостью (максимальное количество воды, удерживаемое почвой) и «мертвым запасом».

Л-4 Значение воды для формирования лесных насаждений

Основные вопросы

Механизмы передвижения воды по растению. Теория сцепления

Восходящий поток воды в растении идет по сосудам ксилемы, лишенным цитоплазмы. Помимо работы нижнего концевого двигателя и присасывающего действия транспирации (верхний концевой двигатель) в передвижении воды по капиллярным сосудам ксилемы участвуют силы сцепления (когезии) молекул воды друг с другом и силы прилипания (адгезии) воды к стенкам сосудов. Обе силы препятствуют также образованию пузырьков воздуха, способных закупорить сосуд. Скорость передвижения воды по ксилеме равна 12-14 м/ч.

Большая часть воды, попавшей в листья, испаряется в атмосферу, а меньшая часть (около 0,2 %) используется в метаболизме клеток на поддержание тургора и в транспорте органических соединений по сосудам флоэмы.

Вода из клеток листа и непосредственно из сосудов ксилемы поступает во флоэмные окончания по осмотическому градиенту, возникающему вследствие накопления в клетках флоэмы сахаров и других органических соединений, которые образуются в клетках листьев и переносятся в клетки флоэмы в результате активной работы транспортных насосов. Нисходящий флоэмный ток доставляет органические соединения тканям корня, где они используются в метаболизме. В корне окончания проводящих пучков флоэмы, как и в листе, располагаются вблизи элементов ксилемы, и вода по осмотическому градиенту поступает в ксилему и движется вверх с восходящим током. Таким образом, происходит обмен воды в проводящей системе корня и листьев.

Транспирация: ее формы и физиологическое значение

Транспирация - это физиологический процесс испарения воды растением. Основным органом транспирации является лист. Вода испаряется с поверхности листьев через клеточные стенки эпидермальных клеток и покровные слои (кутикулярная транспирация) и через устьица (устыческая транспирация).

Эпидермис листьев растений - первичная поверхностная однослойная ткань - выполняет важную роль в осуществлении процессов водо- и газообмена. Клетки эпидермиса покрыты на поверхности кутикулой, часто восковым налетом, живыми или отмершими волосками (исполняют роль экрана, отражающего часть солнечных лучей). Эпидермис защищает внутренние ткани растений от иссушения, механических повреждений, проникновения инфекции, через систему устьиц регулирует газообмен и транспирацию растения.

В результате потери воды в ходе транспирации в клетках листьев возрастает сосущая сила. Это приводит к усилиению поглощения клетками листа воды из сосудов ксилемы и передвижению воды по ксилеме из корней в листья. Таким образом, верхний концевой двигатель, участвующий в транспорте воды вверх по растению, обусловлен транспирацией листьев. Верхний концевой двигатель может работать при полном отключении нижнего концевого двигателя, причем для его работы используется не только метаболическая энергия, как в корне, но и энергия внешней среды (температура и движение воздуха).

Транспирация спасает растение от перегрева. Температура сильно транспирирующего листа может примерно на 7 °С быть ниже температуры нетранспирирующего завядающего листа. Кроме того, транспирация участвует в создании непрерывного тока воды с растворенными минеральными и органическими

соединениями из корневой системы к надземным органам растения.

Величина транспирации зависит от числа устьиц, их размещения, степени открытости, строения **Концентрические волны** развития проводящей системы, величины осмотического давления клеточного сока, насыщенности протоплазмы водой, а также от интенсивности освещения, температуры, влажности воздуха, силы ветра и от содержания в почве азота и др. элементов питания.

Количественные показатели транспирации

Интенсивность транспирации - это количество, г, воды, испаряемой растением в единицу времени (ч) с единицы поверхности (дм²). Эта величина колеблется от 0,15 до 1,5. Иногда расчёт ведут на 1 г сухой или сырой массы в 1 час. При определении абсолютной величины транспирации рассчитывают площадь листовой поверхности растений на 1 м² площади, учитывая и площадь поверхности листа. Отношение количества воды, испаряемой с единицы поверхности, к единице свободной поверхности воды называется относительной транспирацией; в оптимальных условиях водоснабжения она равна 0,7-0,85. При определении продукционных характеристик рассчитывают количество воды, израсходованной растением за весь вегетационный период, и относят его к сухой массе всего растения.

Транспирационный коэффициент - это количество воды (г), расходуемой растением на образование 1 г сухого вещества. Этот параметр зависит от климатических и почвенных условий и от вида растений (например у просовидных злаков он относительно низок). Транспирационный коэффициент разных растений варьируется от 200 до 1000 и более. Зная его величину, можно приблизительно вычислять поливные нормы для орошаемых культур в разных почвенно-климатических условиях и рационализировать приёмы орошения. Транспирационный коэффициент уменьшается с улучшением условий питания, увлажнения, с повышением плодородия почвы и уровня агротехники. Величину, обратную транспирационному коэффициенту, называют продуктивностью транспирации.

Продуктивность транспирации - количество, г, сухого вещества, накопленного растением за период, когда оно испаряет 1 кг воды.

Относительная транспирация - это отношение воды, испаряемой листом, к воде, испаряемой со свободной водной поверхности той же площади за один и тот же период времени.

Экономичность транспирации - это количество (мг) испаряемой воды на 1 кг воды, содержащейся в растении.

У растений одного вида в сходных условиях количество испаряемой воды тем выше, чем больше листовая поверхность. Так, с 1 га посева пшеницы выделяется около 2 тыс. т воды, 3,2 тыс. т кукурузы, 8 тыс. т капусты.

Основными методами определения интенсивности транспирации отдельных листьев и небольших растений являются весовой и потометрический. Для определения транспирационных характеристик ценозов применяют методы локального определения количества испаряемой влаги участком кроны или посева и последующую экстраполяцию.

Кутикулярная транспирация

Кутикулярная транспирация. Снаружи листья имеют однослоиный эпидермис, внешние стенки клеток которого покрыты кутикулой и воском, образующими эффективный барьер на пути движения воды. Кутикула состоит из кутина - бесструктурного образования, лишённого корпескулярных и фибрillлярных элементов; устойчива к химическим воздействиям. Она отсутствует на погруженных в воду органах водных растений, слабо развита у растений, обитающих в тени и на сырой почве, а особенно хорошо - у растений, нуждающихся в ограничении транспирации. Гладкая и блестящая кутикула листьев тропических растений отражает часть солнечных лучей и служит защитой от чрезмерной инсоляции. **М** большинства

ксерофитов в кутикулярном слое откладываются бледно-жёлтые пигменты, обеспечивающие непроницаемость клеточной стенки для ультрафиолетовых лучей.

Интенсивность кутикулярной транспирации варьируется у разных видов растений. У молодых листьев с тонкой кутикулой она может составлять около половины всей транспирации. У зрелых листьев с более мощной кутикулой кутикулярная транспирация равна 1/10 общей транспирации. В стареющих листьях из-за повреждения кутикулы она может возрастать.

Таким образом, кутикулярная транспирация регулируется главным образом толщиной и целостностью кутикулы и других защитных покровных слоев на поверхности листьев.

Устьичная транспирация и механизм ее регулирования

Устьица представляют собой щель в подустьичную полость, окаймленную двумя замыкающими клетками серповидной формы. Стенки замыкающих клеток, обращенные к щели, образуют утолщения. Противоположные стенки тонкие. Устьичная щель ведёт в обширный межклетник - подустьичную полость. Устьице нередко бывает окружено двумя или несколькими прилегающими клетками, отличающимися по форме от основной массы клеток эпидермиса. В основе устьичных движений лежит обратимое изменение тургора замыкающих клеток. Тонкие участки их стенок с повышением тургора растягиваются и вытягиваются в направлении от устьичной щели.

В этом же направлении выгибаются и стенки, обращенные к щели. Ширина щели увеличивается - и устьице открывается. С понижением тургора замыкающих клеток устьице закрывается. Устьица играют важную роль в газообмене между листом и атмосферой, так как являются основным путем для водяного пара, углекислого газа и кислорода. Устьица находятся на обеих сторонах листа. Есть виды растений, у которых устьица располагаются только на нижней стороне листа. В среднем число устьиц колеблется от 50 до 500 на 1 мм^2 . Транспирация через устьица идет почти с такой же скоростью, как и с поверхности чистой воды. Это объясняется законом И. Стефана: через малые отверстия скорость диффузии газов пропорциональна не площади отверстия, а диаметру или длине окружности. Поэтому хотя площадь устьичных отверстий мала по сравнению с площадью всего листа (0,5-2 %), испарение воды через устьица идет очень интенсивно.

Транспирация слагается из двух процессов: 1) передвижение воды в листе из сосудов ксилемы по симпласту и преимущественно по клеточным стенкам, так как в стенках транспорт воды встречает меньшее сопротивление; 2) испарение воды из клеточных стенок в межклетники и подустьичные полости с последующей диффузией в окружающую атмосферу через устьичные щели. Чем меньше относительная влажность атмосферного воздуха, тем ниже его водный потенциал. Если водный потенциал воздуха меньше водного потенциала подустьичных полостей, то молекулы воды испаряются наружу.

Основным фактором, влияющим на открывание и закрывание устьиц, является содержание воды в листе, в том числе и в замыкающих клетках устьиц. Высокая оводненность замыкающих клеток приводит к открыванию устьиц. При недостатке воды замыкающие клетки выпрямляются - и устьичная щель закрывается. Кроме того, по мере увеличения водного дефицита в тканях растения повышается концентрация ингибитора роста абсцизовой кислоты. Она подавляет деятельность H^+ -насосов в плазмалемме замыкающих клеток, которые участвуют в H^+/K^+ обмене, вследствие чего снижается их тургор и устьица закрываются. Абсцизовая кислота также ингибирует синтез фермента а-амилазы, что приводит к снижению гидролиза крахмала, поэтому сосущая сила замыкающих клеток уменьшается - и устьица закрываются.

Так как замыкающие клетки устьиц содержат хлоропласти, синтез углеводов в процессе фотосинтеза в замыкающих клетках увеличивает их сосущую силу и вызывает поглощение воды, способствуя этим открыванию устьиц.

При снижении концентрации CO_2 в подустьичной полости ниже 0,03 %, тургор замыкающих клеток увеличивается - и устьица открываются. Повышение концентрации CO_2 в воздухе вызывает закрытие устьиц. Это происходит в межклетниках листа ночью, когда в условиях отсутствия фотосинтеза и продолжающегося дыхания уровень углекислого газа в тканях повышается. Становится ясно, почему ночью устьица закрыты и открываются с восходом солнца. Сдвиг рН в щелочную сторону вследствие уменьшения концентрации CO_2 увеличивает активность ферментов, участвующих в распаде крахмала, тогда как при кислом рН при повышении содержания CO_2 в межклетниках повышается активность ферментов, катализирующих синтез крахмала.

На свету замыкающие клетки устьиц содержат значительно больше калия, чем в темноте. При открывании устьиц содержание калия в замыкающих клетках увеличивается в 4 раза (при одновременном снижении его содержания в сопутствующих клетках). Установлено повышение содержания АТФ в замыкающих клетках устьиц в процессе их открывания. АТФ, образованная в процессе фотосинтетического фосфорилирования в замыкающих клетках, используется для усиления поступления калия. Усиленное поступление ионов калия повышает сосущую силу замыкающих клеток. В темноте ионы калия выделяются из замыкающих клеток, устьица закрываются.

Периодичность суточного хода транспирации наблюдается у многих растений, но у разных видов растений устьица функционируют неодинаково. У деревьев, теневыносливых растений, многих злаков и других гидростабильных видов с совершенной регуляцией устьичной транспирации испарение воды начинается на рассвете, достигает максимума в утренние часы. Полдень транспирация снижается и вновь увеличивается в предвечерние часы при снижении температуры воздуха. Такой ход транспирации приводит к незначительным суточным изменениям осмотического давления и содержания воды в листьях. У видов растений, способных переносить резкие изменения содержания воды в клетках в течение дня, то есть у гидролабильных видов, наблюдается одновершинный суточный ход транспирации с максимумом в полуденные часы. В обоих случаях ночью транспирация минимальна или полностью прекращается.

Ночью у большинства растений устьица закрыты и газообмен и транспирация минимальны. В светлый период суток при благоприятных погодных условиях устьичные щели находятся в открытом состоянии. Через открытые устьица углекислый газ легко проникает во внутренние ткани растения, а кислород, образовавшийся в процессе фотосинтеза, а также пары воды выделяются в атмосферу.

Особенности водного обмена у растений разных экологических групп

Гидрофиты (гидратофиты) - растения, обитающие в воде. Они погружены в воду полностью или частично, регулируют постоянство состава внутренней среды с помощью механизмов защиты от избыточного поступления воды. У монадных форм зеленых водорослей, заселяющих в основном пресные воды, клеточные стенки замкнуты не полностью (из-за наличия выростов цитоплазмы - жгутиков, с помощью которых они передвигаются). У всех монадных форм имеются пульсирующие вакуоли, посредством которых из клеток удаляются избыток воды и отходы жизнедеятельности. У гидрофитов с замкнутой клеточной стенкой ее противодавления достаточно для предотвращения поступления излишков воды в клетку. Первичными гидрофитами являются водоросли. Водные цветковые растения - это вторичные гидрофиты, происходящие от наземных форм.

По способности приспосабливать водный обмен к колебаниям водоснабжения различают две группы наземных растений: пойкилогидрические и гомойгидрические.

Пойкилогидрические организмы (бактерии, синезеленые водоросли, низшие зеленые водоросли, грибы, лишайники и др.) приспособились переносить значительный недостаток воды без потери жизнеспособности. При этом у них

снижается интенсивность обмена веществ, клетки равномерно сжимаются. Протопласт их клеток при сильном обезвоживании переходит в состояние геля. Увеличение количества воды в **Контрольные вопросы** приводит к восстановлению активного метаболизма в клетках. По характеру изменения таких показателей водного режима, как интенсивность транспирации, осмотическое давление, содержание воды, в течение суток они относятся к гидролабильным растениям, так как у них значительно изменяются содержание воды и испарение.

Гомойгидрические растения (наземные папоротникообразные, голосеменные, цветковые) составляют большинство обитателей суши. Они обладают механизмами регуляции устьичной транспирации, а также корневой системой, обеспечивающей доставку воды. Поэтому даже при значительных изменениях влажности среды у этих растений не наблюдается резких колебаний содержания воды в клетках, в которых, как правило, развита вакуолярная система. Их клетки не способны к обратимому высыханию. У этих растений - гидростабильный тип водного режима. Стабилизации водного режима у многих видов растений способствуют запасы воды в корнях, стеблях и запасающих органах. Гомойгидрические растения делятся на три экологические группы:

гигрофиты (тонколистные папоротники, некоторые фиалки и другие), произрастающие в условиях повышенной влажности и недостаточной освещенности. Теневыносливые гигрофиты с почти всегда открытыми устьицами имеют гидатоды, через которые выделяют избыток воды в капельножидкому состоянии. Гигрофиты плохо переносят почвенную и воздушную засуху;

мезофиты (лиственые деревья, лесные и луговые травы, большинство культурных растений), которые обитают в среде со средним уровнем обеспеченности водой и не имеют ясно выраженных приспособлений к избытку или недостатку воды; ксерофиты, живущие в местах с жарким и сухим климатом и приспособленные к атмосферной и почвенной засухе. Ксерофиты делят на четыре группы.

Первые - избегающие засухи (эфемеры и эфемероиды). Эти растения обладают коротким вегетационным периодом, приурочивая весь жизненный цикл к периоду дождей; засуху они переносят в форме семян. Эфемеры - это однолетники, срок жизни которых (от всходов до вызревания семян) сокращен до продолжительности влажного сезона в пустыне. Они очень быстро развиваются с началом дождей, быстро отцветают и завязывают плоды. С наступлением засухи они полностью отмирают, оставляя для воспроизведения жаростойкие семена. Некоторые виды эфемеров сократили продолжительность своего жизненного цикла до полутора месяцев. Среди эфемеров преобладают мезофиты.

Эфемероиды - многолетние растения. Подобно эфемерам, они развиваются только во влажный сезон года. Однако с наступлением сухого сезона они, в отличие от эфемеров, отмирают не полностью, а лишь сбрасывают фотосинтезирующие органы (листья или безлистные однолетние побеги).

Многолетние органы являются одновременно и запасающими органами эфемероидов, накапливающими воду и питательные вещества. Во внетропических пустынях с морозными зимами это, как правило, подземные органы: клубни, луковицы, корневища. В тропических пустынях многолетние органы могут быть и надземными, в том числе луковицы, каудесы и древесные стволы (например хоризии, баобабы и др.). Но во всех случаях отмирают ассимилирующие органы, листья или заменяющие их молодые зеленые побеги.

Вторая группа - растения, запасающие влагу (ложные ксерофиты). К этой группе растений относятся суккуленты (кактусы и растения семейства толстянковых). Эти растения живут в районах, где засушливые периоды сменяются периодами дождей. Они имеют толстые и мясистые стебли. Листья часто редуцированы, вся поверхность растений покрыта толстым слоем кутикулы, что существенно снижает их

транспирацию. Суккуленты обладают неглубокой, но широко распространяющейся корневой системой.

Клетки корня характеризуются сравнительно низкой концентрацией клеточного сока. Вода, запасаемая в мясистых органах, тратится очень медленно. Суккуленты обладают своеобразным обменом веществ. Днем их устьица закрыты, а ночью открываются, что обеспечивает снижение расходования воды в процессе транспирации. Для суккулентов характерен CAM-тип фотосинтеза. Углекислый газ поступает через устьица ночью и усваивается с образованием органических кислот. В дневные часы углекислый газ вновь освобождается и используется в процессе фотосинтеза. Поэтому эти растения фотосинтезируют при устьицах, закрытых днем. Растения этой группы не устойчивы к длительному водному стрессу.

Третья группа - гемиксерофиты, или полуксерофиты. Это растения, у которых сильно развиты приспособления к добыче воды. У них глубоко идущая, сильно разветвленная корневая система. Клетки корня обладают высокой концентрацией клеточного сока и очень отрицательным водным потенциалом. Растения этой группы обладают хорошо развитой проводящей системой. Листья у них тонкие, с очень густой сетью жилок, что сокращает путь передвижения воды к клеткам листьев. Даже в очень жаркие дни они держат устьица открытыми. Благодаря высокой интенсивности транспирации температура листьев значительно понижается, что позволяет осуществлять фотосинтез при высокой температуре воздуха. Листья некоторых растений покрыты волосками, которые создают «экран», дополнительно защищающий листья от перегрева.

Четвертая группа - эуксерофиты, или настоящие ксерофиты. Это растения, обладающие способностью резко сокращать транспирацию в условиях недостатка воды. Они имеют приспособления к сокращению потерь воды (подземные органы). Иногда и стебли покрыты толстым слоем пробки, листья - толстым слоем кутикулы. Многие имеют волоски. Устьица расположены в углублениях, устьичные щели закупорены восковыми и смолистыми пробочками, листья свернуты в трубочку, где создается свой микроклимат и уменьшается контакт устьичных щелей с атмосферой. Для растений этой группы характерна способность переносить обезвоживание и состояние длительного завядания. Особенно хорошо переносят потерю воды растения с жесткими листьями (склерофиты), которые и в состоянии тurgора имеют сравнительно мало воды. Эти растения характеризуются большим развитием механических тканей и распространяют свои корни в глубине почвы, там, где в течение всего года сохраняется хотя бы минимальное количество доступной им влаги.

Роль растений в круговороте воды в биосфере

Воды планеты, нагреваемые солнцем, испаряются. Выпадающая живительным дождем влага возвращается обратно в океан в качестве речных вод или очищенных фильтрацией грунтовых вод, перенося огромное количество неорганических и органических соединений. Живые организмы активно участвуют в круговороте воды, являясь необходимым компонентом процессов метаболизма. На суще большая часть воды испаряется растениями, уменьшая водосток и препятствуя эрозии почвы. Поэтому при вырубке лесов поверхностный сток увеличивается сразу в несколько раз и вызывает интенсивный размыв почвенного покрова. Лес замедляет таяние снега - и талая вода, постепенно стекая, хорошо увлажняет поля. Уровень грунтовых вод повышается, а весенние наводнения редко бывают разрушительными.

Влажные тропические леса смягчают жаркий экваториальный климат, задерживая и постепенно испаряя воду (это явление называют транспирацией). Вырубка тропических лесов вызывает в близлежащих районах катастрофические засухи. Хищническое уничтожение лесов способно превратить в пустыни целые страны, как это уже случилось в Северной Африке. Круговорот воды, регулируемый растительностью, - важнейшее условие поддержания жизни на Земле. 18

Контрольные вопросы:

Л-5 Современная теория фотосинтеза

Основные вопросы

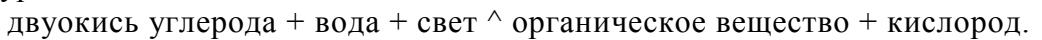
Определение понятия «фотосинтез»

Фотосинтез - это биологический процесс, в ходе которого энергия электромагнитного излучения превращается в химическую энергию органических соединений. Сначала свет поглощается молекулами пигментов в светособирающей антенне, затем происходит перенос энергии возбуждения к реакционному центру (особому связанному с мембраной молекулярному комплексу), который содержит хлорофилл (Хл) или бактериохлорофилл (БХл). Именно в реакционном центре (РЦ) происходит первичная фотохимическая реакция — перенос электрона от первичного донора, обозначаемого символами D или P, к акцептору A. Энергию света, запасаемую при разделении зарядов, растение использует для осуществления реакций электронного транспорта, которые дают энергию для синтеза устойчивых высокоэнергетических соединений (АТФ, НАДФН+Н, углеводов).

Развитие учения о фотосинтезе

Процесс приобретения знаний в области фотосинтеза начался с первых количественных экспериментов Ван Гельмонта (начало XVII в.) по выращиванию ивы на песке, работ С. Гельса в 1727 г. и его труда «Статика растений», в котором утверждалось, что часть необходимого питания растения получают при помощи листьев из воздуха, исследования М. И. Ломоносова «Слово о явлениях воздушных» (1753). М. И. Ломоносов писал: «..ращение тучных дерев, которые на бесплодном песку корень свой утвердили, ясно изъявляет, что жирными листами жирный тук из воздуха впитывают». Опыты Дж. Пристли в 1771 г. показали способность зеленых растений выделять на свету кислород, а опыты голландского врача И. Ингенхауза (1778-1779) доказали исключительную роль зеленых частей растений и света в выделении кислорода. В 1782 г. Ж. Сенебье установил факт выделения растениями кислорода только при условии наличия в воздухе углекислого газа.

В начале XIX в. Н. Соссюр количественно показал, что синтез органического вещества растениями осуществляется за счет углекислого газа и воды, и составил балансовое уравнение:



Французский химик, физиолог Ж. Б. Буссенго в 1840 г. усовершенствовал методы количественного анализа фотосинтеза. Немецкий ботаник Ю. Сакс (1832-1897) показал, что образование крахмала на свету идет за счет поглощенного углекислого газа. Немецкий ботаник В. Пфеффер (1845-1920) заложил основы энергетики фотосинтеза. Добени (1836) применил цветные экраны и показал неоднозначную роль различных участков света. В России А.С. Фамильцын (1835 - 1918) защитил докторскую диссертацию (1866) «Действие света на водоросли и некоторые другие близкие к ним организмы», первым указал на симбиотическую природу хлоропластов.

В 70-х годах XIX в. А.М. Бутлеров обнаружил, что при полимеризации формальдегида образуются сахароподобные вещества. На основе этих опытов Бойер вывел стехиометрическое уравнение фотосинтеза



А. Н. Бах (1857-1946) в опытах 1893-1898 гг. установил, что фотосинтез представляет собой серию сопряженных окислительно-восстановительных реакций, в результате которых происходят как усвоение углекислого газа, так и освобождение кислорода из воды с участием перекиси в качестве промежуточного продукта. В 1905 г. Ф. Блекман изучал световые, температурные и углекислотные кривые адсорбции CO_2

и сформулировал фундаментальное положение: «Фотосинтез состоит из световой и темновой фаз». В 1910 г. М. С. Цвет показал, что две близкие по химическому составу формы хлорофилла **Контрольные вопросы** хроматографией.

Широко известны слова К. А. Тимирязева о роли хлорофилла в поглощении света и космической роли зеленых растений (работы «Значение лучей различной преломляемости в процессе разложения углекислоты рутениями (1869); «Солнце, жизнь и хлорофилл» (1920). В 1881 г. русский химик И. П. Бородин получил кристаллический хлорофилл, а биохимик М. В. Ненцкий в 90-х гг. XIX века установил близость химической структуры хлорофилла и гема. В 1913 г. Вильштеттер расшифровал структуру хлорофилла, а в лаборатории Фишера были осуществлены основные этапы синтеза этого соединения, блестяще завершенные Вудвордом.

Д. И. Ивановский в период 1907-1920 гг. изучал физико-химические свойства пигментов пластид и их связь с поглощением света. В 1919 г. О. Варбург применил свой известный манометрический метод для изучения фотосинтеза. В 1926-1928 гг. С. П. Костычев определил суточный ход фотосинтеза и заложил основы экологии фотосинтеза. В 1931 г. К. Ван-Ниль в опытах с пурпурными серобактериями показал, что в процессе фотосинтеза происходит фотовосстановление, а не фоторазложение CO₂ и единственной фотохимической реакцией является фотолиз воды. В 1932 г. Эмерсон и Арнольд ввели представление о фотосинтетических реакционных центрах.

30-е годы XX века. А. А. Рихтер изучал хроматическую и световую адаптацию морских водорослей. В 1933 г. Каутский и Хирш обнаружили индукцию флюоресценции у зеленой водоросли хлореллы и связали ее с индукцией фотосинтеза. В 1935 г. В. Н. Любименко выпустил монографию «Фотосинтез, хемосинтез в растительном мире». В 1937 г. Р. Хилл выделил изолированные хлоропласти и показал, что выделение кислорода можно осуществить без восстановления углекислого газа в восстановления солей железа (Fe \wedge Fe²⁺) (реакция Хилла). Рубен начал изучение химизма фотосинтетического восстановления углекислого газа с помощью изотопов C¹⁴. Первый этап усвоения CO₂ - нефотохимическая ферментативная реакция карбоксилирования.

40-е годы XX века. В 1941 г. Ван-Ниль выдвинул предположение о глубоком сходстве фотохимических процессов у растений и бактерий. Одновременно А. П. Виноградов и Р. В. Тейс изучили изотопный состав кислорода, выделяемого растениями при фотосинтезе. Вывод - кислород освобождается из воды, а не из углекислого газа. В 1944 г. Гаффрон со своими сотрудниками показал, что водоросли в водородной среде переходят в бактериальную форму фотосинтеза.

50-е годы XX века. На русский язык переведен трехтомный обзор Е. Рабиновича (1951). В 1952 г. Дюйзенс обнаружил перенос энергии от фикобилинов к хлорофиллу. В 1954 г. Кандлер и Френкель Арнон обнаружили циклическое фотосинтетическое фосфорилирование. В 1954 г. Арнон постулировал: весь процесс фотосинтеза происходит в хлоропластах. В 1954-1957 гг. Кальвин, Бенсон, Бассем определили последовательность реакций восстановительного цикла углерода. В 1956 г. Арнон показал возможность нециклического фотофосфорилирования.

60-е годы XX века. В 1961 г. М. В. Келдыш президент АН СССР, определяя перспективы, отметил: «Наука должна достигнуть решительных успехов в области познания фотосинтеза и подготовки к осуществлению искусственных фотосинтетических процессов вне растений».

С середины XX века изучению фотосинтеза способствовали новые методы исследования (газовый анализ, изотопные методы, спектроскопия, электронная микроскопия и др.). На их основе сформированы представления о: механизмах участия хлорофилла в фотосинтезе (А. Н. Теренин, А. А. Красновский, американские учёные Е. Рабинович, В. Кок, У. Арнольд, Р. Клейтон, Дж. Франк, Дж. Лаворель); окислительно-восстановительных реакциях и существовании двух **Фотохимических**

реакций (Р. Хилл, С. Оча, В. Вишняк, Р. Эмерсон, Френч, Л. Дейсенс); фотосинтетическом фосфорилировании (Д. Арнон); путях превращения углерода (М. Калвин, Дж. Бассам, К. Слэк); механизме разложения воды (В. Кок, А. и П. Жолио, В. М. Кутюрин и др.); справедливости хемиосмотической гипотезы Митчелла в отношении фотофосфорилирования хлоропластов (Ягендорф, Витт, Аврон); кооперативном фотосинтезе, или C_4 - метаболизме у кукурузы, сахарного тростника, сорго (Карпилов, Коршак, М. Хэтч и К. Слэк). В 1962 г. Сисакян и Литлтон, независимо друг от друга, обнаружили в хлоропластах рибосомы. В 1966 г. Мюлтнер начал исследования ультраструктуры мембран тилакоидов. В 1968 г. Толберт открыл пероксисомы в листьях.

К концу шестидесятых годов XX в. основные процессы фотосинтеза были изучены. Начался этап внедрения полученных результатов для решения пищевых, технических и биосферных проблем.

Краткий систематический обзор фотосинтетиков

Фотосинтетики - автотрофные организмы, которые встречаются в над-царстве Доядерных организмов (Procyota), в частности в его подцарствах Бактерии (Bacteriobionta) и Цианеи (или сине-зеленые водоросли), т. е. Cyanobionta, в надцарстве Ядерные организмы (Eucaryota), царстве Растений (Plantae), в которое входят подцарства Багрянок (Rhodobionta), Настоящих водорослей (Phycobionta) и Высших растений (Embryobionta). У всех представителей царства Растений клетки имеют плотную клеточную стенку, запасным веществом является крахмал.

В подцарстве Бактерии (Bacteriobionta) описано более 50 видов пурпурных и зеленых бактерий, объединенных в порядок Rhodospirillales. Подпорядок Rhodospirillineae (пурпурные бактерии) включает семейство Rhodospirillaceae (несерные пурпурные бактерии, 4 рода Rhodococcus, Rhodomicrobium, Rhodopseudomonas и Rhodospirillum); семейство Chromatiaceae (пурпурные серобактерии), 9 родов Chromatium, Ectothiorhodospira, Lamprocystis, Thiocapsa, Thiocystis, Thiodictyon, Thiopedia, Thiosarcina и Thiospirillum).

Подпорядок Chlorobiineae (зеленые бактерии) включает семейство Chlorobiaceae (зеленые серобактерии, 5 родов Anacalochloris, Chlorobium, Clathrochloris, Pelodictyon и Prosthecochloris), семейство Chloroflexaceae (несерные зеленые бактерии, 3 рода Chloroflexus, Chloronema и Oscillochloris).

Зеленые серобактерии встречаются в сероводородных средах. Фотосинтез ограничен фоторедукцией CO_2 сероводородом. Окисление происходит только до элементарной серы. Прочие соединения серы, а также органические вещества не используются в качестве водородных доноров. Эти бактерии не нуждаются в органических ростовых факторах.

Пурпурные серобактерии (Thiorhodaceae) от пурпурного до красного цвета обычно встречаются в средах, содержащих сульфиды. Способны окислять различные неорганические соединения серы до сульфатов с одновременным восстановлением CO_2 . Могут использовать различные органические вещества, особенно низшие жирные кислоты, вместо сульфидов (в качестве водородных доноров). Некоторые виды способны также усваивать молекулярный водород. Не нуждаются в органических ростовых факторах.

Пурпурные несеробактерии (Aethiobacteraceae) имеют пурпурную, красную или бурую окраску, в зависимости от природы каротиноидов. Встречаются преимущественно в средах, содержащих органические соединения. Способны к фотохимическому восстановлению CO_2 большим числом различных органических восстановителей; некоторые виды могут использовать молекулярный водород. Рост зависит от присутствия органических веществ (например дрожжевых экстрактов), предположительно дающих необходимые органические ростовые факторы, в небольшом количестве.

У представителей подцарства Цианей (Cyanobionta) хлорофилл представлен хлорофиллом *a*. Дополнительные пигменты - фикобилины.

В составе подцарства (Cyanobionta) - растения с хлорофиллом *a*, редко с хлорофиллом *d*, фикоэритрином и фикоцианином, но без хлорофилла *c*. В составе надцарств Настоящих водорослей (Phycobionta) и Высших растений (Embryobionta) растения с хлорофиллами (*a+c*) (*a+b*), но без хлорофилла *d*.

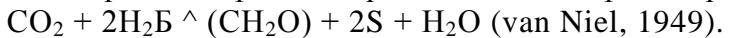
Основные балансовые уравнения фотосинтеза

Балансовое уравнение процесса окисленного фотосинтеза, осуществляемого зелеными растениями водорослями и цианобактериями, -

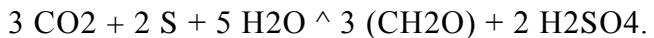


где (CH_2O) - условное обозначение образующегося при фотосинтезе органического вещества (1/6 часть молекулы глюкозы). Акцептором водорода в данном уравнении выступает углекислый газ.

Балансовые уравнения бактериального фотосинтеза различаются. У пигментированных серобактерий донором водорода является сероводород:



Когда сероводород в среде почти исчерпан, бактерии начинают окислять серу до сульфатов согласно реакции



В минерализованных водах, где распространены пурпурные и зеленые серные бактерии, серная кислота вступает в реакции с ионами металлов, образуя сульфаты. Приведенными уравнениями не исчерпывается многообразие возможных путей восстановления углекислого газа. В качестве донора водорода могут выступать сульфит и тиосульфат. Восстановление углекислого газа серными и несерными пурпурными бактериями может идти при участии молекулярного водорода:



Фотосинтез бактерий имеет аноксигенный характер. Ван Ниль предложил общую формулу для процесса усвоения углекислого газа на свету разными организмами



Структурная организация фотосинтетического аппарата

прокариот и эукариот

Балансовые уравнения не раскрывают всей сложности реакций, объединенных понятием «фотосинтез». Процесс протекает в специализированных клетках, главным отличием которых являются фотосинтетические пигменты. Клетки прокариот - наиболее просто организованные автономные фотосинтезирующие структуры. Мембранны, обеспечивающие протекание связанных с поглощением света процессов фотосинтеза, не обособлены в органеллы и в отсутствие света могут переключаться на дыхание. У цианобактерий тилакоиды заполняют большую часть клетки и не организованы в граны. Фикобилины в комплексе с белками образуют на тилакоидах поверхностные структуры - фикобилисомы. У фотосинтезирующих бактерий хроматофоры представляют собой везикулярные образования.

Фотосинтезирующие клетки эукариот обязательно имеют в своем составе органеллы - хлоропласти или хроматофоры. Хлоропласти способны выполнять весь комплекс процессов фотосинтеза, связанных с поглощением света, и основную часть ферментативных реакций, обеспечивающих ассимиляцию углекислого газа. Однако весь комплекс ферментативных реакций фотосинтеза требует кооперации хлоропластов (кооперативный фотосинтез у C_4)

- растений) или хлоропластов, митохондрий, глиоксисом и пероксисом (у C_3)
- растений при фотодыхании).

У большинства растений хлоропласти имеют форму эллипса, окружены двойной мембраной. Внутри хлоропласта расположены пигментсодержащие мембранны,

образующие замкнутые полости, «мешки», или тила- коиды. Свободное от тилакоидов пространство внутри хлоропласта называется стромой. Собранные в «стопки» тилакоиды образуя **Контрольные вопросы** называются тилакоидами гран. Свободно расположенные тилакоиды называют тилакоидами стромы. Хлоропласти, в которых есть грани, относят к гранальному типу, а те, в которых есть только тилакоиды стромы - к агранальному типу. Хлоропласти имеют кольцевую ДНК и все необходимые для синтеза белка компоненты. Геном хлоропластов кодирует лишь часть необходимых белков; другую часть кодирует ядерный геном фотосинтезирующей клетки. Хлоропласти возникают *de novo* из инициальных частиц, а также могут размножаться путем простого деления.

Л-6 Фотосинтез как основа продуктивности лесных насаждений

Основные вопросы

Роль фотосинтеза в процессах энергетического и пластического обмена растительного организма

У водорослей и высших растений основными конечными продуктами фотосинтеза являются углеводы. Углеводы легко вовлекаются в процесс дыхания и таким образом обеспечивают энергетический обмен клетки. Среди продуктов фотосинтеза наиболее распространены сахароза и крахмал. Крахмал накапливается в фотосинтезирующих клетках в виде нелабильных крахмальных зерен. Сахароза может вовлекаться в систему дальнего флоэмного транспорта.

Ферментные системы синтеза сахарозы и крахмала конкурируют между собой за субстрат - глюкозо-6-фосфат. Кроме сахарозы и крахмала углерод C^{14} из молекулы углекислого газа обнаруживают в глюкозе и фруктозе.

В условиях низких концентраций углекислого газа в атмосфере и высокой инсоляции в хлоропластиах активируется гликолатный путь (фотодыхание). С участием митохондрий на этом пути образуются аминокислоты глицин и серин.

Синтез аминокислот (аланина, серина, аспарагиновой, глутаминовой) может осуществляться на основе промежуточных продуктов восстановительного цикла. В синтезе аминокислот участвует фосфоглицериновая кислота, которая превращается в ФЕП, затем - в пируват. Путем Р-карбоксилирования идет серия ферментативных реакций превращения четырехуглеродных дикарбоновых кислот (ЩУК, янтарная, яблочная). Фиксация углекислого газа через реакции Р-карбоксилирования кетокислот может составлять до 20-30 % от всего ассимилированного углерода.

В целом, продукты фотосинтеза относятся к углеводам, органическим кислотам и аминокислотам. Они могут быстро использоваться в реакциях синтеза липидов, белков и нуклеиновых кислот.

Масштабы фотосинтетической деятельности в биосфере.

Эволюция биосфера и фотосинтез

В процессе фотосинтеза на Земле первично создаются органические вещества, используемые в дальнейшем в качестве пищи, кормов, горючего, промышленного сырья и т. д. Как видно из общего уравнения, фотосинтез включен в глобальный газообмен на планете, обеспечивая необходимый для жизни уровень кислорода, а также необходимый для биосфера в целом уровень углекислого газа.

Подсчет общего количества органического вещества, образуемого в ходе фотосинтеза, возможен с точностью до тонны, когда расчет идет на 1 км², и до миллиарда тонн (т x 10⁹) для всей планеты. В среднем на 1 км² суши приходится 110 т углерода в год. С поправкой на дыхание (15 %) валовый фотосинтез составит 130 т углерода/ км² год. Распределение валовой первичной продукции по компонентам биосфера (суша, вода) и компонентам суши (лес, культурная земля, степь и др.) показано на слайде 12.8. В 1926 г. Костычев показал, что максимальная суточная производительность фотосинтеза (10-25 г/м²) - у пустынных ксерофитов и растений влажных субтропиков, минимальная - у растений средней полосы (4 - 623 м).

Фотосинтетическая продукция в последние десятилетия находится под пристальным вниманием ученых в связи с угрозой развития парникового эффекта. Полученные за эти **Контрольные вопросы** позволили в ряде случаев изменить расчетные величины. Для глобального баланса углерода оказался важным не валовый, а чистый фотосинтез.

По этому показателю тайга и растительность болот существенно опережают тропическую растительность. Одна тонна органического углерода аккумулирует приблизительно 10 ккал световой энергии. Это составляет 0,02-0,03 % от световой энергии в области ФАР.

Очевидно, что фотосинтез с момента своего возникновения играет ключевую роль в эволюции биосфера. Определяющими состояние биосфера параметрами являются количество запасенного органического вещества (валовая первичная продукция), количество выделившегося кислорода, балансовый уровень углекислого газа в атмосфере (глобальная температура, глобальный климат).

Глобальная модель климата показывает, что после мелового периода (144-66 млн лет назад) уровень CO_2 снизился от 2800 ppm до 1000 ppm и оставался таким в эоцене (37-58 млн лет назад); в последующие 40 млн лет концентрация CO_2 продолжала снижаться сначала до 500 ppm, а затем - до 180-220 ppm (в плейстоценовую эпоху). В 1997 г. Cerling et al. предположил, что C_4 - растения начали глобальную экспансию 5-7 млн лет назад, когда уровень CO_2 составлял 500 ppm. Современный уровень 330-360 ppm. Падение концентрации CO_2 привело к снижению эффективности C_3 фотосинтеза и усилению фотодыхания, в ходе которого может «теряться» до 50 % ассимилированного углерода.

Это послужило эволюционным стимулом для создания CO_2 - концентрирующего механизма. Первыми проблему увеличения концентрации CO_2 в клеточном пространстве, где локализован фермент Рубиско, решили цианобактерии и водоросли. За ними последовали высшие растения. Около 13 млн лет назад в условиях тропического климата произошел переход к C_4 - пути метаболизма. В результате возник механизм концентрации CO_2 , который обеспечил оптимальные условия для фермента Рубиско (1000-3000 ppm).

Пигменты фотосинтеза

Хлорофиллы: химическая структура, спектральные свойства, функции

Хлорофилл в хлоропластах появляется в процессе зеленения пластид. У высших растений и водорослей встречаются хлорофиллы, *a*, *b*, *c*, *d*, *e*. Только хлорофилл *a* присутствует во всех перечисленных группах. Эмпирическая формула хлорофилла *a* $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{K}_4\text{Mg}$.

По химической природе молекула хлорофилла состоит из порфирина- вого кольца (тетрапиррола) в составе дикарбоновой кислоты - хлорофилли- на, этифицированной остатком метилового спирта и высокомолекулярного одноатомного спирта - фитола:



Пиррольные кольца в ядре хлорофилла обозначены римскими цифрами (I-IV), а углеродные атомы ядра - арабскими цифрами (1-8). Атомы углерода 9 и 10 входят в состав циклопентанового кольца. Углеродные атомы метино- вых мостиков ($=\text{C}-$), соединяющих пиррольные кольца, обозначены греческими буквами (*α*, *β*, *γ*, *δ*). У хлорофилла *b* в пиррольном кольце II метильная группа при C_3 заменена альдегидной. Его эмпирическая формула - $\text{C}^8\text{H}_{14}\text{N}^2\text{Mg}$. При потере магния хлорофилл превращается в феофитин, магния и фитола - в феофорбид, только фитола - в хлорофиллид.

Ядро хлорофилла обладает гидрофильными свойствами, остаток фитола - гидрофобными свойствами. Это позволяет молекуле хлорофилла взаимодействовать как с белками, так и с липидами. Хлорофиллы легкорастворимы в **24**етоне, серном

эфире, этаноле, метаноле, сероуглероде, бензоле, плохо растворимы в петролейном эфире.

Спектры **поглощения**: *a* и *b* в этиловом эфире имеют следующие особенности. Их максимумы поглощения в синей части спектра (полоса Соре) 428,5-430 нм и 452,5-455 нм, в красной части спектра 660-662 нм и 642-649 нм. Положение красного максимума зависит от природы растворителя. С ростом показателя преломления максимум поглощения смещается в длинноволновую область (в метаноле с $n_{D2C} = 1,3288$ максимум 665,7 нм; в сероуглероде с $n_{D2C} = 1,6295$ максимум 672,2 нм).

Хлорофилл *c* дополняет хлорофилл *a* во многих отделах водорослей (диатомовых, динофитовых, хризофитовых). По химической природе он представляет собой смесь хлорофиллидов *a* и *b*, которые отличаются наличием этильной или винильной группы у C_4 в порфириновом кольце II. Максимумы поглощения хлорофилла в 80 %-ном ацетоне - 446 нм и 631 нм. Интенсивность красной полосы слабая.

Хлорофилл *d* дополняет хлорофилл *a* у некоторых красных и хризофитовых водорослей. Хлорофилл *d* можно рассматривать как производную от хлорофилла *a*, в молекуле которого винильная группа при C_2 заменена на формильную группу. Положение максимумов поглощения в диэтиловом эфире - 445 нм и 686 нм.

Пигменты порфиринового ряда у фотосинтезирующих бактерий называют бактериохлорофиллами и в зависимости от химической структуры обозначают буквами *a*, *b*, *c*, *d*. Бактериохлорофилл *a* обнаружен у серных и несерных пурпурных бактерий, а также в небольшом количестве у зеленых бактерий. Бактериохлорофилл *b* - у серных и несерных пурпурных бактерий. Бактериохлорофиллы *c* и *d* у зеленых бактерий.

Бактериохлорофилл *a* отличается от хлорофилла *a* тем, что винильная группа при C_2 замещена на ацетильную (прибавлен один атом кислорода), во II пиррольном кольце гидрирована двойная связь между C_3 и C_4 (прибавлены два атома водорода). Длинноволновый максимум поглощения в растворе находится в области 770-780 нм. Подобно хлорофиллу, бактериохлорофилл дает производные: бактериохлорофиллид, бактериофеофитин, бактериофео- форбид.

Длинноволновый максимум поглощения бактериохлорофилла *b* сдвинут на 10-20 нм по сравнению с бактериохлорофиллом *a*.

Бактериохлорофилл *c* этифицирован не фитолом, а спиртом транс- транс - фарнезолом ($C_{15}H_{25}OH$). В положении C_2 вместо винильной группы находится оксиэтильная группа. В положении C_{10} вместо карбоксильной группы - атом водорода. В спектре поглощения хлорофилла *c* в диэтиловом эфире максимумы расположены при 432 и 663 нм, в спектре хлорофилла *d* - при 425 и 653 нм.

Общим свойством для всех порфириновых пигментов является способность к флюоресценции в красной (ближней инфракрасной) области спектра. Максимум флюоресценции смещен в длинноволновую сторону по отношению к длинноволновому максимуму поглощения. Квантовый выход достигает десятков процентов в органических растворителях и снижается до нескольких процентов или до нуля в живых клетках.

В физиологических исследованиях важным показателем является отношение вспомогательных хлорофиллов (*b*, *c*, *d*) к хлорофиллу *a*, которое характеризует степень адаптации к низкому уровню облученности.

Фотохимическую функцию в составе реакционных центров выполняют хлорофилл *a* и бактериохлорофилл *a*, а также их феопроизводные. Антенную функцию (поглощение и передача энергии к пигменту реакционного центра) выполняют вышеперечисленные зеленые пигменты.

Основные этапы биосинтеза молекулы хлорофилла

Предшественником всех хлорофиллов является 5-аминолевулиновая кислота

(5АЛК). Известны два метаболических пути образования 5АЛК: путь Шемина и путь Биле. Оба пути функционируют в растениях. В основе пути Шемина у животных, бактерий, эвглен и **Контрольные вопросы**: бактерий, эвглен и глицина с образованием амино-Р-кетоадипиновой кислоты. Глицил - радикал немедленно декарбоксилируется в 5АЛК. Реакцию катализирует АЛК-синтетаза. Активность АЛК-синтетазы обнаружена в хлоропластах. Однако доля 5АЛК, синтезированной из глицина, крайне мала по сравнению со всей 5АЛК, участвующей в синтезе тетрапиррола.

Путь Биле катализируют ферменты, часть которых растворены в строме хлоропластов, а другие тесно связаны с мембранами. В 1974 г. Биле и Кастелфранко показали, что глутамат и а-кетоглутарат являются субстратами для синтеза 5АЛК. Путь Биле обнаружен в хлоропластах высших растений, водорослях, включая эвглену, фотосинтезирующих и нефотосинтезирующих бактериях.

Активация глутамата. Было доказано, что биосинтез 5АЛК зависит от tRNA. Это подтвердило гипотезу Гассмана и Богорада (1967) об участии нуклеиновых кислот в биосинтезе хлорофилла. Путем секвенирования было показано, что t-РНК имеет антикодон УУЦ, специфичный к глутамину. Глутамат t-РНК-лигаза, кодируемая ядерным геном, катализирует присоединение t-РНК к первому углероду глутамата. В качестве кофакторов используется ион магния и АТФ.

Глутамил-КРНК комплекс превращается в глутамат 1-семиальдегид (Г1СА) с участием оксидоредуктазы с кофактором НАДФН. Превращение Г1СА в 5АЛК катализируется витамином В₆ и пиридоксальфосфатзависимым ферментом - ГСА-аминотрансферазой. Некоторые авторы допускают наличие промежуточных соединений. Также предполагают, что 5АЛК возникает в результате неферментативной конденсации двух молекул ГСА. Реакции от 5АЛК до протопорфирина IX являются общими при биосинтезе хлорофилла и гемма.

Порфобилиноген (ПБГ) образуется в реакции асимметричной конденсации двух молекул 5АЛК с освобождением двух молекул воды. Фермент АЛК-дегидратаза связан с металлом: с цинком у бактерий и с магнием у растений. Ингибируется кадмием и свинцом.

В образовании уропорфириногена III участвуют два фермента: ИБГ - деаминаза и УроШ-синтетаза. Полимеризуются четыре молекулы ПБГ с образованием линейного и очень лабильного тетрапиррола (первый фермент); замыкается в кольцо вторым ферментом. УроШ-синтетаза очень нестабильна даже при комнатной температуре.

Образование копропорфириногена III катализируется ферментом уропирогеназой, который кодируется геном hem12. Образование протопорфириногена IX происходит при окислительном декарбоксилировании двух пропионовых остатков в А и В кольцах копропорфирина-III с участием копропорфириноген-9-карбоксилат-редуктазы, и образуется дивинилпротопорфириноген 9 (DV-протоген 9). Возможен также выход моновинилпротопорфирина 9 (MV-протоген 9).

Образование протопорфирина IX происходит в результате удаления шести электронов из ИНГ-IX.

На этапе от протопорфирина к протохлорофиллу происходит захват иона магния (фермент магний-хелатаза связан с мембраной и требует АТФ). Этерификация магний-протопорфирина-9 в магний - протопорфирин-9 монометиловый эфир, образование изоциклического кольца приводят к образованиюprotoхлорофилла. Свойственно хлорофиллам.

Протохлорофилл описывают в двух формах: моновинильной и дивинильной. Выделяют следующую группу растений: накапливающие дивинил в темноте и на свету (огурцы, хвойные); содержащие моновинильную форму в темноте и дивинильную на свету (однодольные, бобы); синтезирующие ди-винильную форму в темноте и моновинильную на свету (виола, гинкго); имеющие только моновинильную форму (яблоня). По-видимому, на самом деле в каждом растении присутствуют обе формы, но

в разной пропорции и в зависимости от стадий развития растений. Хорошо известно, что покрытосеменным растениям необходим свет для синтеза хлорофилла, тогда как остальные способны **Контрольные вопросы**.

На последнем этапе биосинтезаprotoхлорофилл превращается в хлорофилл *a*.

Для световой трансформацииprotoхлорофилл в хлорофилл с участием НАДФН-зависимой фотооксидоредуктазы достаточно 10-микро- секундной вспышки. Кодируется ядерной ДНК. Действительным субстратом является возбужденныйprotoхлорофилл. Фотоактивныйprotoхлорофилл существует в двух промежуточных комплексах (P638-642 и P650-657), причем второй преобладает. Фотоактивныйprotoхлорофилл имеет одну полосу флюoresценции при 657 нм. Фотонеактивныйprotoхлорофилл назван так, поскольку превращается в хлорофилл не очень быстро.

Первым продуктом фоторедукции является хлорофилл (C676-688) после присоединения двух остатков водорода в 17 и 18 позициях. После его образования развиваются два различных спектральных сдвига (шифта). Первый из них (коротковолновый) происходит через несколько секунд с образованием C670-675, что объясняют отделением хлорофилла от фермента. Это главный сдвиг в пропластидах.

Второй сдвиг в длинноволновую область происходит обычно за 30 секунд. Конечный продукт -хлорофилл в комплексе с НАДФ и ферментом. Этот сдвиг обычно бывает у этиопластов. После длинноволнового сдвига в поглощении и флюoresценции максимум хлорофилла претерпевает другой сдвиг в коротковолновую сторону (C672-682) в течение 30 минут. Это хорошо известный сдвиг Шибата (1957) за счет разделения хлорофилла и фермента. Во время сдвига хлорофилл интенсивно этерифицируется геранил- гераноил - пирофосфатом, который через дигидрогеранилгераноил и тетра- дигидрогеранилгераноил превращается в фитол (хлорофилл-сингтетаза). Превращением форм хлорофилла занимались Красновский, Литвин, Богоград, Шлык.

Независящая от света реакция восстановленияprotoхлорофилла с участием НАДФ существует у хламидомонады, родобактера, цианобактерии.

Хорошо известно, что хлорофилл на свету деградирует и должен постоянно синтезироваться *de novo*. Удивительно, что образование хлорофилла изprotoхлорофилла происходит одинаково в зеленеющих и зеленых листьях. Спектр живого листа зависит от присутствия различных форм хлорофилла и каротиноидов.

В полной темноте листья или проростки накапливают небольшие количестваprotoхлорофилла. Это показывает, что все ферменты активны. Длительное пребывание в темноте (более шести дней у однодольных и десяти дней у двудольных растений) приводит к постепенному уменьшению содержанияprotoхлорофилла (вероятно, в результате ингибирования реакции синтеза гема АЛКprotoхлорофиллом).

Во время зеленения, когда этиолированные листья попадали на свет, фотоактивный пулprotoхлорофилла восстанавливается до хлорофилла. Образование хлорофилла на свету имеет лаг - фазу, за время которой активируется АЛА-сингтетаза. В зеленеющих листьях и проростках диурон ингибирует синтез хлорофилла (вероятно, опосредованно, через ТФ и окислительновосстановительное состояние переносчиков). Абсцизовая кислота подавляет синтез хлорофилла и действует как антагонист цитокинина. Бензиладенин устраняет лаг-фазу образования хлорофилла, вероятно стимулируя синтез АЛК. В регуляции синтеза хлорофилла принимает участие фитохромная система.

Хлорофилл-белковые комплексы

В фотосинтетические мембранны хлорофилл входит в составе хлоро- филл-белковых комплексов. В настоящее время известно около десятка хлоро- филл-белковых комплексов с различной молекулярной массой и 27спектральными

характеристиками поглощения и флюоресценции. Хлорофиллбелковые комплексы двух фотосистем интегрированы в мембранны тилакоида (мембранны стромы и мембранны гран). Светособирающий комплекс расположена на периферии, обеспечивает гранальную структуру хлоропластов и участвует в регуляции распределения энергии возбуждения между двумя фотосистемами.

Фикобилины: распространение, химическое строение, спектральные свойства, роль в фотосинтезе

У красных, криптофитовых водорослей и цианобактерий функцию светособирающих пигментов выполняют фикобилины: фикоэритрин, фикоцианин и аллофикоцианин. Фикоцианины и фикоэритрин, принадлежащие цианобактериям, обозначают буквой С, а принадлежащие красным водорослям - буквой R.

Фикобилины относятся к билипротеинам (комплекс белка с желчным пигментом). По химическому строению фикобилины - это производные тетрапирролов, не замкнутые в кольцо и не связанные с атомом магния. Белки в составе фикобилинов относятся к глобулинам. С одной стороны, связь пигментов с белками прочная и не разрывается органическими растворителями. С другой стороны, фикобилины легко извлекаются водой. Водные экстракты фикобилинов в видимой части спектра имеют характерные максимумы: фикоэритрин - 497 и 562 нм; фикоцианин - 552 и 615 нм; аллофикоцианин - 650 нм. Фикобилины флуоресцируют как в интактных клетках, так и в экстрактах пигmenta.

Каротиноиды: химическое строение, спектральные свойства, функции

Каротиноиды представляют большую группу желтых, оранжевых, бурых пигментов. Это полиеновые соединения, часто с 40 атомами углерода. Различают каротины (состоят из углерода и водорода) и ксантофиллы (состоят из углерода, водорода и кислорода). В зависимости от строения концевых групп, различают циклические и ациклические каротиноиды.

Среди них есть ациклические (ликопин), моноциклические (лютеин) и дициклические (Р-каротин, а-каротин, зеаксантин), кислородсодержащие бициклические ксантофиллы - виолоксантин и неоксантин. Количество и положение максимумов во многом зависит от растворителя. Диапазон длин волн, в котором у каротиноидов имеются максимумы поглощения, от 420 до 550 нм. Состав каротиноидов и их соотношение во многом уникально. Это позволяет использовать каротиноиды в новом направлении систематики - хемосистематике.

Биосинтез каротиноидов начинается с ацетата. Начальный этап - образование мевалоновой кислоты; затем следует образование изопренOIDНЫХ цепей. Ключевым моментом в синтезе каротиноидов является образование фитоина. На его основе в дальнейшем происходит образование ациклических, циклических и кислородсодержащих каротиноидов.

Л-7 Современная теория дыхания и роль дыхания в продукционном процессе растений

Основные вопросы

Роль дыхания в продукционном процессе

Взаимосвязь дыхания с другими процессами обмена

В качестве субстратов для дыхания нужны углеводы, которые образуются в ходе фотосинтеза. Многие промежуточные продукты дыхания необходимы для биосинтеза важнейших соединений. Триозофосфат, превращаясь в глицерин, может использоваться при синтезе жиров. Пировиноградная, кетоглутаратовая и щавелевоуксусная кислоты путем аминирования превращаются в аланин, глютаминовую и аспарагиновую аминокислоты. Они используются при синтезе белков. Янтарная кислота дает основу для формирования порфиринового ядра хлорофилла. Ацетилкоэнзим А является исходным материалом для образования жирных кислот. Пентозы, образующиеся в ходе

апотомического пути окисления, входят в состав нуклеотидов, нуклеиновых кислот, никотинамидных и флавиновых коферментов. Эритрозо-4-фосфат, реагируя с фосфоэнолпировиноградной кислотой, образует шикимовую кислоту, которая необходима для образования ароматических аминокислот, например триптофана. Триптофан участвует в синтезе белков и является предшественником фитогормона 3-индолилуксусной кислоты.

Составляющие дыхания: дыхание роста, дыхание поддержания

Разделение дыхания на компоненты дает возможность выявить особенности использования ассимилятов у различных генотипов, более точно определить причины увеличения дыхательных расходов в онтогенезе растения и найти пути их уменьшения. Дыхание роста представляет собой ту часть темнового дыхания, которая обеспечивает энергией все звенья многоступенчатых цепей биохимических синтезов, в результате которых из конечных продуктов фотосинтеза и минеральных элементов создается новая структурная фитомасса растения. Дыхание поддержания включает энергию, необходимую для ресинтеза тех веществ, которые претерпевают обновление в процессе обмена веществ, а также для поддержания в клеткахной концентрации ионов и величины pH, сохранения внутриклеточного фонда метаболитов против градиента концентрации, поддержания функционально активного состояния структур.

Для разделения дыхания на составляющие применяют различные методы: расчетный, темновой, экстраполяционный; температурный и др. Предполагается, что скорость синтеза структурного вещества растения пропорциональна интенсивности дыхания роста, определяемого как разность между суммарным дыханием и дыханием на поддержание. Последнее считается пропорциональным массе структурного вещества растения. Изменение содержания свободных ассимилятов рассчитывается как разность между поступлением свободных ассимилятов в процессе фотосинтеза и использованием их на процессы дыхания и синтеза структурного вещества.

На базе многочисленных экспериментальных данных было выведено уравнение расчета составляющих дыхания

$$R = Rm + Rg = mW + aP,$$

где R - суммарное дыхание; Rm - дыхание поддержания; Rg - дыхание роста.

Дыхание поддержания коррелирует с массой (W), а дыхание накопления - с продуктивностью фотосинтеза (P).

Согласно теоретическим расчетам коэффициент дыхания роста (a) составляет 0,17-0,24 г/г, коэффициент дыхания поддержания (m) равен 0,01-0,03 г/г в сутки. Коэффициент a слабо зависит от температуры, водного дефицита, влажности воздуха, интенсивности света и практически постоянен в онтогенезе; более высокие значения (0,3—0,5 г/г) получены для листьев северных растений и корней растений умеренной зоны. Значение 0,2 г/г - значение для корней северных растений и целых растений всех изученных климатических зон. Большая величина a у листьев растений Севера коррелирует с большим количеством белка в них.

Коэффициент m зависит от температуры, водного дефицита, условий минерального питания. Он различен для отдельных органов и изменяется в онтогенезе. В течение вегетации соотношение Rg и Rm изменяется.

Среди аспектов проблемы продуктивности растений важное место занимает оценка количественного соотношения дыхания и фотосинтеза. Оптимальный баланс углерода является одним из критериев приспособленности растений к условиям местообитания; поэтому определение указанного соотношения дыхания и фотосинтеза широко практикуется в экологофизиологических исследованиях. В благоприятных условиях интенсивность дыхания листа не превышает 5-15% интенсивности фотосинтеза. Определение соотношения дыхания и фотосинтеза целого растения на протяжении жизненного цикла позволяет выявить основные закономерности в производстве биомассы.

Влияние внешних факторов на процесс дыхания

Кислород необходим для осуществления дыхания, так как он является конечным акцептором электронов в **биохимических процессах** электрон-транспортной цепи. Низкие концентрации кислорода (гипо- и аноксия) вызывают ингибирование дыхания и нарушение многих метаболических процессов. У растений, произрастающих в условиях с низким уровнем кислорода, в зоне ризосфера выработаны механизмы адаптации к этим условиям.

Увеличение содержания кислорода в воздухе до 8-10 % сопровождается повышением интенсивности дыхания. Дальнейшее увеличение концентрации кислорода не влияет существенно на дыхание. Однако в атмосфере чистого кислорода интенсивность дыхания растений снижается, а при длительном его действии растение погибает. Гибель растения обусловлена усилением в клетках свободнорадикальных реакций и повреждением мембран вследствие окисления их липидов.

Углекислый газ является конечным продуктом дыхания. При высокой концентрации газа дыхание растений замедляется по следующим причинам: ингибируются дыхательные ферменты; закрываются устьица, что препятствует доступу кислорода к клеткам.

Температура. Дыхание некоторых растений идет и при температуре ниже 0 °C. Так, хвоя ели дышит при -25°C. Интенсивность дыхания, как всякой ферментативной реакции, возрастает при повышении температуры до определенного предела (35-40 °C).

Содержание воды. Водный дефицит растущих тканей увеличивает интенсивность дыхания из-за активации распада сложных углеводов (например крахмала) на более простые, которые являются субстратом дыхания. Однако при этом нарушается сопряжение окисления и фосфорилирования. Дыхание в этом случае представляет собой бесполезную трату вещества. Иная закономерность характерна для органов, находящихся в состоянии покоя. Повышение содержания воды в семенах приводит к резкому увеличению интенсивности дыхания.

Свет. Трудно выявить влияние света на дыхание зеленых растений, т. к. одновременно с дыханием осуществляется противоположный процесс - фотосинтез. Освещенность, при которой интенсивность фотосинтеза равна интенсивности дыхания по уровню поглощенного и выделенного углекислого газа, называют компенсационным пунктом. Дыхание незеленых тканей активируется светом коротковолновой части спектра, т. к. максимумы поглощения флавинов и цитохромов расположены в области 380-600 нм.

Минеральные вещества. Такие элементы, как сера, железо, медь, марганец, необходимы для дыхания, являются составной частью ферментов или (например, фосфор) промежуточным продуктом. При повышении концентрации солей в питательном растворе, на котором выращивают проростки, их дыхание активируется (эффект «солевого дыхания»).

Механическое повреждение усиливает дыхание из-за быстрого окисления фенольных и других соединений, которые выходят из поврежденных вакуолей и становятся доступными для оксидаз.

Изменение интенсивности дыхания в онтогенезе

На уровне целого растения дыхание является интегральным показателем, значение которого может сильно варьироваться, в зависимости от стадии онтогенеза растения и его органов и тканей. Наиболее высока интенсивность дыхания у молодых, активно растущих тканей (меристиматических и недифференцированных) и органов. После окончания роста интенсивность дыхания листьев снижается до уровня, равного половине максимального, и затем долго не меняется. При пожелтении листьев и в период, предшествующий полному созреванию плодов, у этих органов наблюдается активация синтеза этилена с последующим кратковременным усилением дыхания, которое называют климактерическим подъемом дыхания. Этилена увеличивает

проницаемость мембран и гидролиз белков, что приводит к повышению содержания субстратов дыхания. Однако это дыхание не сопровождается образованием АТФ.

Интенсивность дыхания корня и листьев, по мере старения растений снижается. Динамика дыхания корня в онтогенезе растения аналогична динамике фотосинтеза целого растения, имеющей форму колоколообразной кривой с максимумом в фазе цветения генеративных органов.

Интенсивность дыхания в расчете на единицу массы целого растения уменьшается по мере старения, что объясняется как снижением интенсивности дыхания роста в результате уменьшения скорости роста, так и уменьшением интенсивности дыхания поддержания.

Физиологическая роль дыхания.

Специфика дыхания у растений

Определение процесса клеточного дыхания.

Общая схема процесса дыхания

Клеточное дыхание - универсальный процесс, присущий всем организмам, тканям, клеткам, не прекращающийся в течение всего периода жизнедеятельности и обеспечивающий энергией и пластическими веществами.

Дыхание - сложная многозвенная система последовательных сопряженных ферментативных окислительно-восстановительных реакций, в ходе которых происходит постепенное изменение химической природы органических соединений, трансформация и использование их внутренней энергии.

Дыхание относится к категории катаболических процессов.

Процесс клеточного дыхания включает несколько этапов и осуществляется последовательно и скоординированно в нескольких компартментах клетки.

Подготовительный этап - гидролиз полимеров и сложных соединений (полисахариды, белки, жиры) - происходит в основном в лизосомах.

Гликолиз - первый этап окисления субстрата - осуществляется в гиалоплазме (хлоропласти).

Цикл Кребса локализован в матриксе митохондрий. Это заключительный этап превращения субстрата.

Электрон-транспортная цепь дыхания - заключительный этап трансформации энергии окисляемого субстрата с участием кислорода.

Типы окислительно-восстановительных реакций

Несмотря на сложность реакций процесса клеточного дыхания, их объединяют несколько типов окислительно-восстановительных реакций:

1. При окислении донор отдает, а акцептор принимает только электроны:
$$\text{Fe}^{2+} - e \rightarrow \text{Fe}^{3+} + e$$

(цитохромы, железосерные белки и т. п.).

2. При окислении донор отдает, а акцептор принимает электроны и протоны:
$$\text{AH}_2 + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{BH}_2$$

(дегидрогеназы, оксидазы).

Часто в таких реакциях участвует предварительно фосфорилированный или гидратированный донор.

3. Окисление связано с включением одного или двух атомов кислорода в молекулу окисляемого субстрата с образованием окисей и перекисей (оксигеназы).

Катализитические системы дыхания.

Механизмы активации водорода субстрата и молекулярного кислорода

Ферменты, участвующие в процессе дыхания, можно разделить на несколько функциональных групп: оксидоредуктазы (дегидрогеназы, оксида-зы); изомеразы; карбоксилазы; трансферазы; оксигеназы. Изомеразы, карбок- силазы, трансферазы и некоторые другие ферменты не участвуют непосредственно в окислительных реакциях, но они преобразуют окисляемый субстрат таким образом, что он становится более 31

«удобным» для окислительных ферментов.

Основную функциональную группу ферментов дыхания - оксидоредуктазы - традиционно делят на **Контрольные сопротивляющие** водород субстрата, и оксидазы, активирующие молекулярный кислород.

Дегидрогеназы, в свою очередь, по природе кофакторов, акцепторов и окисляемых группировок молекулы субстрата делят на две подгруппы.

Первая - анаэробные, или пиридиновые, дегидрогеназы. Это двухкомпонентные ферменты, коферментом которых являются НАД или НАДФ. Они передают электроны различным акцепторам, но не кислороду, и отнимают два электрона и протона от субстрата. Окисляемая группировка - СНОН-. Два электрона и один протон присоединяются к коферменту, а другой протон выделяется в среду. В зависимости от апофермента, определяющего специфичность фермента к субстрату, различают более 150 ферментов.

Вторая - аэробные, или flavиновые, дегидрогеназы. Они катализируют отнятие двух электронов и протонов от субстратов и передают их от анаэробных дегидрогеназ разным акцепторам (хиноны, цитохромы), в том числе и кислороду. Простетической группой служат производные витамина В₂ - flavинадениндинуклеотид и flavинмононуклеотид. Окисляемая группировка -CH₂-CH₂-.

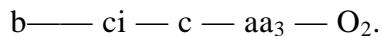
Оксидазы. Эти ферменты передают электроны от субстрата только на кислород. При этом образуются вода (на O₂ переносятся 4 электрона - цитохромоксидаза), перекись водорода (H₂O₂, на O₂ переносятся 2 электрона - flavиновые оксидазы) или супероксидный анион кислорода (на O⁻2 переносятся 1 электрон - ксантинооксидаза). Перекись водорода и супероксидный анион кислорода весьма токсичны и поэтому быстро превращаются в воду и кислород под действием каталазы и супероксиддисмутазы соответственно.

Большинство оксидаз являются металлсодержащими белками и делятся на железосодержащие и медьсодержащие белки.

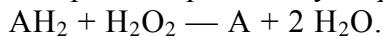
Железосодержащие оксидазы - сложные ферменты, коферментом которых является железопорфириновые производные.

К железопорфиринам относятся цитохромы групп а, в, с, пероксидазы и каталаза.

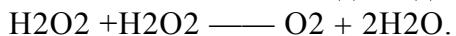
Коферментные части различных групп цитохромов различаются незначительно, но эти различия и специфика апоферментов определяют величину их окислительно-восстановительного потенциала. В дыхательной цепи цитохромы осуществляют транспорт электронов по градиенту окислительно-восстановительного потенциала переносчиков:



Пероксидазы не участвуют в основном пути клеточного дыхания, но выполняют важную роль при инактивации перекиси водорода, которая образуется при работе flavиновых оксидаз. Пероксидазы используют перекись водорода в качестве акцептора электронов и протонов при окислении разнообразных субстратов:



Каталаза использует перекись не только в качестве акцептора, но и в качестве донора электронов и протонов; при этом одна молекула перекиси окисляется до молекулярного кислорода, вторая - восстанавливается до воды:



Медьсодержащие оксидазы являются простыми ферментами. К ним относятся полифенолоксидазы и аскорбатооксидаза. Эти оксидазы могут выполнять функции альтернативных терминальных оксидаз в электрон - транспортной цепи растительных клеток. Аскорбатооксидаза в комплексе с глута-тион-редуктазной системой может обеспечивать регенерацию окисленной формы НАД при блокировании основного пути транспорта электронов по ЭТЦ.

Оксигеназы активируют кислород и катализируют его присоединение к различным органическим соединениям (аминокислоты, фенолы, ненасыщенные жирные кислоты, **Контрольные вопросы** углеродные токсичные вещества). В качестве доноров электронов оксигеназы используют NAD(P)H, FADH₂ и др.

Специфика дыхания у растений

Дыхание растений намного сложнее, чем дыхание животных. Разнообразие катализитических механизмов дыхания у растений представляет собой адаптивный механизм, позволяющий растению сохранять необходимый уровень дыхательного метаболизма в непрерывно меняющихся условиях внешней среды. Гетерогенность ферментативной системы дыхания растений определяется не только разнообразием ферментов, но и большим набором изоферментов, синтез которых индуцируется при изменении комплекса физикохимических параметров в клетке.

Л-8 Элементы питания и их поступление в растение

Основные вопросы

Минеральное питание. Роль минеральных элементов

Роль растений в круговороте минеральных элементов в биосфере

В процессе жизнедеятельности растения, являясь автотрофными организмами, поглощают минеральные элементы в форме неорганических соединений, ассимилируют их, включая в состав органических веществ. Продуцируемые ими органические вещества распространяются в экосистемах по цепям питания. Органические остатки в море и на суше минерализуются редуцентами. В течение 6-8 лет живые существа пропускают через себя весь углерод атмосферы. Примеры: круговороты углерода, азота, серы, фосфора.

Потребность растений в элементах минерального питания

Биогенные элементы - это химические элементы, постоянно входящие в состав организмов и имеющие определённое биологическое значение. Прежде всего это кислород, составляющий 70 % всей массы организмов, углерод (18 %), водород (10 %), кальций, азот, калий, фосфор, магний, сера, хлор, натрий, железо и др. В пересчете на сухую массу организмы содержат по 45 % углерода и кислорода, 6 % - водорода, 4% - остальных минеральных элементов. Эти элементы входят в состав всех живых организмов, составляют их основную массу и играют большую роль в процессах жизнедеятельности.

Успехи аналитической химии и спектрального анализа расширили перечень биогенных элементов. Ученые находят всё новые элементы, входящие в состав организмов в малых количествах (микроэлементы), и открывают биологическую роль многих из них. В. И. Вернадский считал, что все химические элементы, постоянно присутствующие в клетках и тканях организмов, в естественных условиях играют определенную физиологическую роль. Многие элементы имеют большое значение только для определенных групп живых существ (например, бор необходим для растений, ванадий - для асции-дий и т.п.). Содержание тех или иных элементов в организмах зависит не только от их видовых особенностей, но и от состава среды, пищи (в частности, для растений - от концентрации и растворимости тех или иных почвенных солей), экологических особенностей организма и других факторов.

Содержание и соотношение минеральных элементов в почве

и в растениях и факторы, их определяющие

Растения получают углерод и кислород преимущественно из воздуха, а остальные элементы - из почвы. Элементы минерального питания - это химические элементы, которые необходимы растению и не могут быть заменены никакими другими. Элементы минерального питания содержатся в почве в четырех формах: прочно фиксированные и недоступные для растения (например, ионы калия и аммония в некоторых глинистых минералах); труднорастворимые неорганические соли (сульфаты, фосфаты, карбонаты) и в такой форме недоступные для растения;

адсорбированные на поверхности коллоидов, доступные для растений благодаря ионному обмену на выделяемые растением ионы; растворенные в воде и поэтому легкодоступные для **Контрольные вопросы:**

Ионы поступают в клетки ризодермы либо из почвенного раствора, либо за счет контактного обмена H^+ , HCO_3^- и анионов органических кислот, адсорбированных на клеточных стенках корневых волосков, на ионы минеральных веществ почвенных частиц.

Выделяя различные вещества (углекислый газ, аминокислоты, сахара и др.), корневая система увеличивает доступность минеральных элементов для растения непосредственно в прикорневой зоне (например путем выделения CO_2):



Повышение растворимости фосфатов и (карбонатов) косвенно создает благоприятные условия для микрофлоры ризосферы, которая играет большую роль в превращении почвенных минералов.

Классификации элементов, необходимых для растений

Растения способны поглощать из окружающей среды практически все элементы. Однако для нормальной жизнедеятельности растительному организму необходимы лишь 19 питательных элементов. Среди них - углерод (около 45 % сухой массы тканей), кислород (45%), водород (6%) и азот (1,5 %). Их называют органогенами. Несколько процентов приходится на зольные элементы, которые остаются в золе после сжигания растения. Содержание минеральных элементов обычно выражают в процентах от массы сухого вещества.

Все минеральные элементы, в зависимости от их количественного содержания в растении, принято делить на макроэлементы, содержание которых - более 0,01 % от сухой массы (к ним относятся азот, фосфор, сера, калий, кальций, магний), и микроэлементы, содержание которых - менее 0,01 % (железо, марганец, медь, цинк, бор, молибден, кобальт, хлор). Ю. Либихом было установлено, что все перечисленные элементы равнозначны и полное исключение любого из них приводит растение к глубокому страданию и гибели. Ни один из перечисленных элементов не может быть заменен другим, даже близким по химическим свойствам. Макроэлементы при концентрации 200-300 мг/л в питательном растворе еще не оказывают вредного действия на растение. Большинство микроэлементов при концентрации 0,1-0,5 мг/л угнетают рост растений.

Основные функции элементов в метаболизме: структурная и катализическая (регуляторная).

Особенностями минерального обмена растений являются следующие:
избирательное накопление элементов в тканях растений в значительно больших концентрациях, чем в окружающей среде;

видовая специфичность в потребности, накоплении и распределении элементов по органам у разных растений.

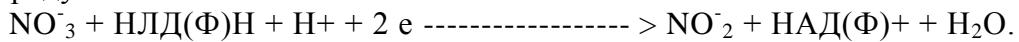
Физиологическая роль макро- и микроэлементов

Макроэлементы

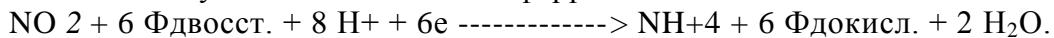
Азот входит в состав белков, нукleinовых кислот, пигментов, коферментов, фитогормонов и витаминов. В почве от 0,5 до 2 % почвенного азота доступно растениям в форме NO_3^- и NH_4^+ -ионов. Запасы азота в почве могут пополняться разными путями: внесение в почву минеральных и органических азотных удобрений; азотфиксация молекулярного азота атмосферы специализированными группами микроорганизмов; минерализация почвенными бактериями органического азота растительных и животных остатков.

Следует подчеркнуть, что растения являются автотрофами не только по углероду, но и по минеральным элементам, в том числе и по азоту (что отличает питание растительных организмов от животных). В органические соединения азот

включается в восстановленной форме; поэтому ионы нитрата, поглощенные растением, восстанавливаются в клетках до аммиака. Редукция нитрата в растениях осуществляется в два **контрольные вопросы**: происходит восстановление нитрата до нитрита, сопряженное с переносом двух электронов и катализируемое ферментом нитратредуктазой:



Нитриты, образующиеся на первом этапе редукции нитратов, быстро восстанавливаются до аммиака ферментом нитритредуктазой. Она в качестве донора электронов использует восстановленный ферредоксин:



Обе эти реакции происходят в листьях и корнях. В зеленых частях растения нитритредуктаза локализована в хлоропластах. Восстановитель ферредоксин получает электроны прямо из фотосинтетической электронтранспортной цепи. В корнях нитрит восстанавливается в пропластидах. Так как в корнях ферредоксин отсутствует, то источником электронов служит НАДФН, образующийся в пентозофосфатном пути дыхания.

Аммиак, поступивший в растение из почвы, образовавшийся при восстановлении нитратов, усваивается растениями с образованием аминокислот и амидов. Фермент глутаматдегидрогеназа катализирует восстановительное аминирование а-кетоглутаровой кислоты с образованием глутаминовой кислоты. На первом этапе реакции субстраты соединяются с образованием иминокислоты, которая затем восстанавливается в глутаминовую кислоту при участии НАД(Ф)Н.

Глутаминсинтетаза катализирует реакцию, в которой глутаминовая кислота функционирует как акцептор NH_3 для образования амида глутамина.

Для этой реакции необходима АТФ. Ионы марганца, кобальта, кальция и магния являются кофакторами глутаминсинтетазы. Фермент обнаружен во всех органах растений и локализован в цитоплазме. Этот путь у большинства растений является основным.

Глутамин и аспарагин, наряду с глутаматом, являются транспортными формами ассимилированного азота в растении.

Фосфор. Растения поглощают из почвы свободную ортофосфорную кислоту и ее двух- и однозамещенные соли, растворимые в воде, а также и некоторые органические соединения фосфора, такие, как фосфаты сахаров и фитин.

Содержание фосфора в растениях составляет около 0,2 % на сухую массу. Фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, нуклеотидов, фосфолипидов и витаминов. Многие фосфорсодержащие витамины и их производные являются коферментами. Для фосфора характерна способность к образованию химических макроэргических связей с высоким энергетическим потенциалом (АТФ и др.). Фосфорилирование, то есть присоединение остатка фосфорной кислоты, активирует клеточные белки и углеводы и необходимо для таких процессов, как дыхание, синтез РНК и белка, деление и дифференцировка клеток, защитные реакции против патогенов и т.д.

Основной запасной формой фосфора у растений является фитин - кальций-магниевая соль инозитфосфорной кислоты. Содержание фитина в семенах достигает 2 % от сухой массы, что составляет 50 % от общего содержания фосфора.

Сера. В почве находится в органической и неорганической формах. Органическая сера входит в состав растительных и животных остатков. Основные неорганические соединения серы в почве - сульфаты (CaSO_4 , MgSO_4 , Na_2SO_4). В затопляемых почвах сера находится в восстановленной форме в виде FeS , FeS_2 или H_2S .

Растения поглощают из почвы сульфаты и в очень незначительных количествах серосодержащие аминокислоты. Содержание серы в растениях составляет около 0,2 %. Однако в растениях семейства крестоцветных ее содержание значительно выше. Серы

содержится в растениях в двух основных формах: окисленной (в виде неорганического сульфата) и восстановленной (аминокислоты, глутатион, белки). Процесс восстановления сульфатов - **Контрольные вопросы** хлоропластах. Восстановление сульфатов - проявление автотрофного типа питания растений; у гетеротрофов не обнаружен.

Одна из основных функций серы в белках - это участие SH-группы в образовании ковалентных, водородных и меркаптидных связей, поддерживающих трехмерную структуру белка. Дисульфидные мостики между полипептидными цепями и двумя участками одной цепи (по типу S-S-мостика в молекуле цистеина) стабилизируют молекулу белка. Сера входит в состав важнейших аминокислот - цистеина и метионина, - которые могут находиться в растениях в свободной форме или в составе белков. Метионин относится к числу 10 незаменимых аминокислот и благодаря наличию серы и метильной группы обладает уникальными свойствами и входит в состав активных центров многих ферментов. Сера входит в состав многих витаминов и коферментов, таких, как биотин, коэнзим А, глутатион, липоевая кислота.

Калий поглощается растениями в виде катиона. Его содержание в растениях составляет в среднем 0,9 %. Концентрация калия высока в огурцах, томатах и капусте, но особенно много его в подсолнечнике. В растениях калий больше сосредоточен в молодых, растущих тканях. Около 80 % калия содержится в вакуолях и 1 % калияочно связан с белками митохондрий и хлоропластов. Калий стабилизирует структуру этих органелл.

Калию принадлежит исключительная роль в поддержании гомеостаза клетки - регуляции осмотического давления, трансмембранных потенциала, равновесия зарядов, катионно-анионного баланса, pH и т.д. Свойство нетоксичности высоких концентраций ионов калия (в отличие от натрия) является определяющим в выполнении его функций в растительной клетке.

Калий в значительной мере определяет коллоидные свойства цитоплазмы, так как способствует поддержанию состояния гидратации коллоидов цитоплазмы, повышая ее водоудерживающую способность. Тем самым калий увеличивает устойчивость растений к засухе и морозу.

Калий участвует в создании разности электрических потенциалов между клетками. Он нейтрализует отрицательные заряды неорганических и органических анионов. Калий необходим для работы устьичного аппарата. Известны более 60 ферментов, активируемых калием. Он необходим для включения фосфата в органические соединения, реакций переноса фосфатных групп, синтеза рибофлавина - компонента всех флавиновых дегидрогеназ. Под влиянием калия увеличивается накопление крахмала в клубнях картофеля, сахарозы - в сахарной свекле, целлюлозы, гемицеллюлоз и пектиновых веществ - в клеточных стенках различных растений.

Кальций. В почве содержится много кальция, и кальциевое голодание встречается редко, например при сильной кислотности или засоленности почв и на торфяниках. Общее содержание кальция у разных видов растений составляет 5-30 мг на 1 г сухой массы. Много кальция содержат бобовые, гречиха, подсолнечник, картофель, капуста, гораздо меньше - зерновые, лен, сахарная свекла. В тканях двудольных растений кальция больше, чем однодольных. Кальций накапливается в старых органах и тканях.

Это связано с тем, что реутилизация кальция затруднена, так как он из цитоплазмы переходит в вакуоль и откладывается в виде нерастворимых солей щавелевой, лимонной и других кислот. В растениях имеется два запасных пула ионов кальция: внеклеточный (апопластный) и внутриклеточный в вакуоли и эндоплазматическом ретикулуме. Большое количество кальция связано с пектиновыми веществами срединной пластиинки и клеточной стенки. Он содержится также в хлоропластах, митохондриях и ядре в комплексах с биополимерами в виде неорганических фосфатов и в форме иона.

Взаимодействуя с отрицательно заряженными группами фосфолипидов, кальций стабилизирует клеточные мембранны. При недостатке кальция увеличивается проницаемость мембраны **Контрольные вопросы** целостность. Недостаток кальция приводит к нарушению формирования клеточных мембран и клеточных стенок при делении клеток.

Регулирующее действие кальция на многие стороны метаболизма определяется его взаимодействием с внутриклеточным рецептором кальция - белком кальмодулином. Это кислый с изоэлектрической точкой при рН 3,04,3 термостабильный низкомолекулярный (мол. масса 16,7 кДа) белок. Он обладает большим сродством к кальцию. Его комплекс с кальцием активирует многие ферменты, например протеинкиназы (фосфорилирование белков), фосфоэстеразу, транспортную Са -АТФазу и др. Кальмодулин может связываться с мембранами в клетке и легко переходит в цитозоль. Влиянием кальция на сборку и разборку элементов цитоскелета объясняется его необходимость для митоза, так как комплекс кальция с кальмодулином регулирует сборку микротрубочек веретена. Кальций участвует в слиянии везикул Гольджи при формировании новой клеточной стенки.

Магний. Недостаток в магнии растения испытывают на песчаных и подзолистых почвах. Много магния в сероземах, черноземах занимают промежуточное положение. Водорастворимого и обменного магния в почве 3-10 %. Магний поглощается растением в виде иона Mg²⁺. При снижении рН почвенного раствора магний поступает в растения в меньших количествах. Кальций, калий, аммоний и марганец действуют как конкуренты в процессе поглощения магния растениями.

У высших растений среднее содержание магния составляет 0,02-3 %. Особенно много его в растениях короткого дня (кукурузе, просе, сорго, а также в картофеле, свекле и бобовых). Много магния в молодых клетках, а также в генеративных органах и запасающих тканях.

Около 10-12 % магния находится в составе хлорофилла. Магний необходим для синтеза протопорфирина IX - непосредственного предшественника хлорофиллов. Магний активирует ряд реакций переноса электронов при фотофосфорилизации, он необходим для передачи электронов от фотосистемы I к фотосистеме II. Магний является кофактором почти всех ферментов, катализирующих перенос фосфатных групп. Это связано со способностью магния к комплексообразованию.

Для 9 из 12 реакций гликолиза требуется участие металлов- активаторов, и 6 из них активируются магнием. За исключением фумаразы, все ферменты цикла Кребса активируются магнием или содержат его как компонент структуры. Для двух из семи (глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа и транскетолаза) ферментов пентозофосфатного пути необходим магний. Он требуется для работы ферментов молочнокислого и спиртового брожения. Магний усиливает синтез эфирных масел, каучука, витаминов А и С. Ионы магния необходимы для формирования рибосом и полисом, связывая РНК и белок, а также для активации аминокислот и синтеза белка. Он активирует ДНК- и РНК- полимеразы, участвует в формировании пространственной структуры нуклеиновых кислот.

Микроэлементы

Железо. Среднее содержание железа в растениях составляет 20-80 мг на 1 кг сухой массы. Ионы Fe³⁺ почвенного раствора восстанавливаются ре-докс-системами плазмалеммы клеток ризодермы до Fe²⁺ и в такой форме поступают в корень. Железо необходимо для функционирования основных ре-докс-систем фотосинтеза и дыхания, синтеза хлорофилла, восстановления нитратов и фиксации молекулярного азота клубеньковыми бактериями. При этом оно входит в состав нитратредуктазы и нитрогеназы.

Медь поступает в клетки в форме иона ^ . Среднее содержание меди в растениях 0,2 мг на кг сухой массы. Около 70 % всей меди, находящейся в листьях,

сосредоточено в хлоропластах, и почти половина ее - в составе пластоцианина (переносчика электронов между фотосистемами II и I). Она входит в состав ферментов, катализирующих окислительные процессы: кислоты, дифенолов и гидроксилирование монофенолов (аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, ортодифенолоксидазы и тирозиназы). Два атома меди функционируют в цитохромоксидазном комплексе дыхательной цепи митохондрий. Медь входит в состав нитратредуктазного комплекса и влияет на синтез легоглобина. Для биосинтеза этилена также необходим медьсодержащий фермент. Влияя на содержание в растениях ингибиторов роста фенольной природы, медь повышает устойчивость растений к полеганию, повышает засухо-, морозо- и жароустойчивость.

Марганец поступает в клетки в форме ионов Mn²⁺. Среднее его содержание составляет 1 мг на 1 кг сухой массы. Марганец накапливается в листьях. Он необходим для фоторазложения воды с выделением кислорода и восстановления углекислого газа при фотосинтезе. Марганец способствует увеличению содержания сахара и их оттоку из листьев. Два фермента цикла Кребса (малатдегидрогеназа и изоцитратдегидрогеназа) активируются ионами марганца. Он также необходим для функционирования нитратредуктазы при восстановлении нитратов. Марганец является кофактором РНК- полимеразы и ауксиноксидазы, разрушающей фитогормон 3-индолилуксусную кислоту.

Молибден. Наибольшее содержание молибдена характерно для бобовых (0,5-20 мг на 1 кг сухой массы), злаки содержат от 0,2 до 2 мг на 1 кг сухой массы. Он поступает в растения в форме аниона MoO₄²⁻, концентрируется в молодых, растущих органах. Его больше в листьях, чем в корнях и стеблях, а в листе он сосредоточен в основном в хлоропластах. Молибден входит в состав нитратредуктазы и нитрогеназы. Молибден необходим для биосинтеза легоглобина. Как металлоактиватор молибден участвует в реакциях аминирования и переаминирования, для включения аминокислот в пептидную цепь, работы таких ферментов, как ксантинооксидаза и различные фосфатазы.

Цинк. Содержание цинка в надземных частях бобовых и злаковых растений составляет 15-60 мг на 1 кг сухой массы. Повышенная концентрация отмечается в листьях, репродуктивных органах и конусах нарастания, наибольшая - в семенах. В растение цинк поступает в форме катиона Zn²⁺. Он необходим для функционирования ферментов гликолиза (гексокиназы, енолазы, триозофосфатдегидрогеназы, альдолазы), а также входит в состав алкогольдегидрогеназы. Цинк активирует карбоангидразу, катализирующую реакцию дегидратации гидрата оксида углерода:



Это помогает использованию углекислого газа в процессе фотосинтеза. Цинк участвует в образовании триптофана. Именно с этим связано влияние катионов цинка на синтез белков, а также фитогормона 3-индолилуксусной кислоты, предшественником которой является триптофан. Подкормка цинком способствует увеличению содержания ауксинов в тканях и активирует их рост.

Бор. Его среднее содержание составляет 0,1 мг на кг сухой массы. В боре наиболее нуждаются двудольные растения. Много бора в цветках. В клетках большая часть бора сосредоточена в клеточных стенках. Бор усиливает рост пыльцевых трубок, прорастание пыльцы, увеличивает количество цветков и плодов. Без него нарушается созревание семян. Бор снижает активность некоторых дыхательных ферментов, оказывает влияние на углеводный, белковый и нуклеиновый обмен.

Механизмы поглощения и транспорта минеральных элементов. Основы применения минеральных удобрений
Поглощение веществ клетками корня

Все неорганические питательные вещества поглощаются в форме ионов, содержащихся в водных растворах. Поглощение ионов клеткой начинается с их

поступления в апопласт и взаимодействия с клеточной стенкой. Ионы могут частично локализоваться в межмицеллярных и межфибриллярных промежутках клеточной стенки, частично **Контрольные вопросы** заряжаться в клеточной стенке электрическими зарядами.

Поступившие в апопласт ионы легко вымываются. Объем клетки, доступный для свободной диффузии ионов, получил название свободного пространства. Свободное пространство включает межклетники, клеточные стенки и промежутки, которые могут возникать между клеточной стенкой и плазмалеммой. Иногда его называют кажущимся свободным пространством (КСП). Этот термин означает, что его рассчитываемый объем зависит от объекта и природы растворенного вещества. Так, для одновалентных ионов объем КСП будет больше, чем для двухвалентных. Кажущееся свободное пространство занимает в растительных тканях 5-10 % объема.

Поглощение и выделение веществ в КСП - физико-химический пассивный процесс, независимый от температуры (в интервале +15 - +35° С) и ингибиторов энергетического обмена. Клеточная стенка обладает свойствами ионообменника, так как в ней адсорбированы ионы H^+ и KCO_3^- , обменивающиеся в эквивалентных количествах на ионы внешнего раствора. Из-за преобладания отрицательных фиксированных зарядов в клеточной стенке происходит первичное концентрирование катионов (особенно двух- и трехвалентных).

Второй этап поступления ионов - транспорт через плазмалемму. Транспорт ионов через мембрану может быть пассивным и активным.

Пассивное поглощение не требует затрат энергии и осуществляется путем диффузии по градиенту концентрации вещества, для которого плазма-лемма проницаема. Пассивное передвижение ионов определяется не только химическим потенциалом ψ , как это имеет место при диффузии незаряженных частиц, но и электрическим потенциалом V . Оба потенциала объединяют в виде электрохимического потенциала ψ :

$$\psi = \psi_e + nFB,$$

где ψ - химический, V - электрический, ψ_e - электрохимический потенциалы; n - валентность иона; F - константа Фарадея.

Любая разность электрических потенциалов, которая возникает на мембранах, вызывает соответствующее перемещение ионов.

Пассивный транспорт может идти с участием переносчиков с большей скоростью, чем обычная диффузия, и этот процесс носит название облегченной диффузии. Известны высокоспецифические транслоказы - белковые молекулы, переносящие адениловые нуклеотиды через внутреннюю мембрану митохондрий: №/Са-обменник - белок, входящий в состав плазматических мембран многих клеток; низкомолекулярный пептид бактериального происхождения валиномицин - специфический переносчик для ионов K^+ . Процесс облегченной диффузии имеет ряд особенностей: 1) описывается уравнением Михаэлиса-Ментен и имеет определенные V_{max} и K_m ; 2) селективен (обладает специфичностью к определенному иону); 3) подавляется специфическими ингибиторами.

Диффузионным путем идет также и транспорт ионов через селективные ионные каналы - интегральные белковые комплексы мембран, образующие гидрофильную пору. Основной составляющей движущей силы этого транспорта является градиент электрохимического потенциала иона. Активность каналов модулируется мембранным потенциалом, pH , концентрацией ионов и др.

Активный транспорт веществ осуществляется против концентрационного градиента и должен быть сопряжен с энергодающим процессом. Основным источником энергии для активного транспорта является АТФ. Поэтому, как правило, активный транспорт ионов осуществляется с помощью транспортных АТФаз.

В сопрягающих мембранах имеются протонные насосы, работающие как H^+ -

АТФ-азы. В результате их функционирования на мемbrane возникают разность концентраций протонов (ДрН) и разность электрических потенциалов, в совокупности образующие протонный потенциал, обозначаемый Δ^+H . За счет работы H^+ -АТФ-азы создается кислая среда в некоторых органеллах клетки (например лизосомах). В митохондриальной мемbrane H^+ -АТФ-аза работает в обратном направлении, используя Δ^+H , создаваемый в дыхательной цепи, для образования АТФ.

Наконец, в клетках широко представлен вторично-активный транспорт, в процессе которого градиент одного вещества используется для транспорта другого. С помощью вторично-активного транспорта клетки аккумулируют сахара, аминокислоты и выводят некоторые продукты метаболизма, используя градиент H^+ .

Пройдя через плазмалемму, ионы поступают в цитоплазму, где включаются в метаболизм клетки. Внутриклеточный транспорт ионов осуществляется благодаря движению цитоплазмы и по каналам эндоплазматического ретикулума. Ионы попадают в вакуоль, если цитоплазма и органеллы уже насыщены ими, или для пополнения пула осмотически активных частиц. Для того, чтобы попасть в вакуоль, ионы должны преодолеть еще один барьер - тонопласт. Транспорт ионов через тонопласт совершается также с помощью переносчиков и требует затраты энергии. Переносчики, расположенные в тонопласте, имеют меньшее сродство к ионам и действуют при более высоких концентрациях ионов по сравнению с переносчиками плазмалеммы. В тонопласте была идентифицирована особая H^+ -АТФаза. Она не тормозится дигидрофлавином - ингибитором H^+ -АТФазы плазмалеммы.

Ближний и дальний транспорт ионов в тканях растения

Различают ближний и дальний транспорт веществ по растению. Ближний транспорт - это передвижение ионов, метаболитов и воды между клетками по симпласту и апопласту. Дальний транспорт - передвижение веществ между органами в растении по проводящим пучкам. Он включает транспорт воды и ионов по ксилеме (восходящий ток от корней к органам побега) и транспорт метаболитов по флоэме (нисходящий и восходящий потоки от листьев к зонам потребления веществ или отложения их в запас).

Загрузка сосудов ксилемы наиболее интенсивно происходит в зоне корневых волосков. В паренхимных клетках проводящего пучка, примыкающих к трахеидам или сосудам, функционируют насосы, выделяющие ионы, которые через поры в стенках сосудов попадают в их полости. В сосудах в результате накопления ионов увеличивается сосущая сила, которая притягивает воду. В сосудах развивается гидростатическое давление и происходит подача жидкости в надземные органы.

Разгрузка ксилемы, то есть выход воды и ионов через поры сосудов ксилемы в клеточные стенки и в цитоплазму клеток мезофилла листа или клеток обкладки, обусловлена гидростатическим давлением в сосудах, работой насосов в плазмалемме клеток и влиянием транспирации, повышающей сосущую силу клеток листа.

Перераспределение и реутилизация ионов в растении.

Взаимодействие ионов (антагонизм, синергизм, аддитивность)

Известные исследователи (И. Кноп, Ю. Сакс, Д. Н. Прянишников и др.) установили, что потребность растения в отдельных зольных элементах изменяется на разных фазах его развития. Более высокие потребности связаны с активным метаболизмом, ростом и новообразованиями. При дефиците многих минеральных элементов симптомы голодаия проявляются, в первую очередь, на старых органах. Это обусловлено тем, что регуляторные системы растения мобилизуют необходимые минеральные элементы и они транспортируются в молодые, активно растущие ткани. Очень подвижны азот, фосфор, калий. Плохо или совсем не реутилизируются бор и кальций.

Для нормальной жизнедеятельности растений должно соблюдаться определенное соотношение различных ионов в окружающей среде. Чистые растворы ⁴⁰ одного какого-

либо катиона оказываются ядовитыми. Так, при помещении проростков пшеницы на чистые растворы KCL или CaCL₂ на корнях сначала появлялись вздутия, а затем корни отмирали. Смешанные соли не обладали ядовитым действием. Смягчающее влияние одного катиона на действие другого называют антагонизмом ионов. Антагонизм ионов проявляется как между разными ионами одной валентности, например между ионами натрия и калия, так и между ионами разной валентности, например ионами калия и кальция. Одной из причин антагонизма ионов является их влияние на гидратацию белков цитоплазмы. Двухвалентные катионы (кальций, магний) дегидратируют коллоиды сильнее, чем одновалентные (натрий, калий). Следующей причиной антагонизма ионов является их конкуренция за активные центры ферментов. Так, активность некоторых ферментов дыхания ингибируется ионами натрия, но их действие снимается добавлением ионов калия. Кроме того, ионы могут конкурировать за связывание с переносчиками в процессе поглощения. Действие одного иона может и усиливать влияние другого. Это явление называется синергизмом. Так, под влиянием фосфора повышается положительное действие молибдена.

Изучение количественных соотношений необходимых элементов позволило создать сбалансированные питательные смеси, растворы минеральных солей для выращивания растений. Хорошо известны смеси Кнопа, Прянишникова, Гельригеля и др.

Исследования ученых школы Д. Н. Прянишникова показали, что каждый вид растения предъявляет специфические требования к количественным комбинациям отдельных зольных элементов. Было также установлено, что потребность растения в отдельных зольных элементах изменяется на разных фазах его развития. Таким образом, наилучшим питательным раствором для растения должен считаться раствор не постоянного, а переменного состава, изменяемый соответственно изменению потребностей растения на разных стадиях его развития. Это положение имеет громадное практическое значение, являясь основой нового метода искусственного поднятия урожайности. Работы Д. А. Сабинина позволили выяснить механизмы поступления воды и минеральных веществ в клетки корней растений, антагонизма и синергизма во взаимодействии ионов.

Корневое питание как важнейший фактор управления

продуктивностью и качеством урожая

В естественных биоценозах поглощенные из почвы соединения частично возвращаются с опавшими листьями, ветками, хвоей. С убранным урожаем сельскохозяйственных растений поглощенные вещества изымаются из почвы. Величина выноса минеральных элементов зависит от вида растения, урожайности и почвенно-климатических условий. Овощные культуры, картофель, многолетние травы выносят больше элементов питания, чем зерновые.

Для предотвращения истощения почвы, а также для получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур необходимо внесение удобрений. Сопоставив количество элементов в почве и растении с величиной урожая, Ю. Либих сформулировал закон минимума, или закон ограничивающих факторов. Согласно этому закону величина урожая зависит от количества того элемента, который находится в почве в относительном минимуме. Увеличение содержания этого элемента в почве за счет внесения удобрений будет приводить к возрастанию урожая до тех пор, пока в минимальном составе не окажется другой элемент. Установлена различная чувствительность растений к недостатку того или иного элемента на определенных этапах онтогенеза. Это позволяет регулировать соотношение питательных веществ в зависимости от фазы развития и условий среды. Так, известно, что в осенний период для озимых культур не рекомендуется вносить азотные удобрения, так как они усиливают ростовые процессы, снижая устойчивость растений. В осенний период надо проводить подкормки фосфором и калием, а весной - азотом.

С помощью удобрений можно регулировать не только величину урожая, но и его качество. Для получения пшеницы с высоким содержанием белка надо вносить азотные удобрения; для получения риса с высоким содержанием крахмала (например пивоваренного ячменя или картофеля) важны фосфор и калий. Внекорневая подкормка фосфором незадолго до уборки усиливает отток ассимилятов из листьев сахарной свеклы к корнеплодам и тем самым увеличивает ее сахаристость.

Контрольные вопросы

Система внесения удобрений - это программа их применения в севообороте с учетом растений-предшественников, плодородия почвы, климатических условий, биологических особенностей растений, состава и свойств удобрений. Эта система создается с учетом круговорота веществ и их баланса в земледелии. Баланс питательных веществ учитывает поступление их в почву с удобрениями, суммарный расход на формирование урожая и непродуктивные потери в почве. Необходимое условие функционирования системы удобрений - это предотвращение загрязнения окружающей среды вносимыми в почву химическими соединениями. Удобрения подразделяют на минеральные и органические, промышленные (азотные, калийные, фосфорные, микроудобрения, бактериальные) и местные (навоз, торф, зола), простые (содержат один элемент питания, например азотные, калийные, борные) и комплексные (содержат два или более питательных элементов). Среди комплексных удобрений выделяют сложные и комбинированные. Сложные удобрения в составе одного химического соединения содержат два или три питательных элемента, например калийная селитра (KNO_3), аммофос ($NH_4H_2PO_4$) и др. Одна гранула комбинированных удобрений включает два или три основных элемента питания в виде различных химических соединений (нитроаммофоска и др.).

До посева вносят 2/3 общей нормы удобрений. Они должны обеспечить растение на весь период развития элементами питания и повысить плодородие почвы. Припосевное удобрение в виде хорошо растворимых соединений вносят малыми дозами (одновременно с посевом или посадкой растений) для обеспечения минерального питания молодых растений. Послепосевные внекорневые подкормки, основанные на способности листьев поглощать минеральные соли в растворе, проводятся для усиления питания растений в наиболее важные периоды их развития.

Основные пути диссимиляции углеводов

Гликолиз

Реакции гликолиза идут в цитозоле и в хлоропластах. Есть три этапа гликолиза: 1 - подготовительный (fosфорилирование гексозы и образование двух фосфотриоз); 2 - первое окислительное субстратное fosфорилирование; 3 - второе внутримолекулярное окислительное субстратное fosфорилирование.

Сахара подвергаются метаболическим превращениям в виде сложных эфиров фосфорной кислоты. Глюкоза предварительно активируется путем fosфорилирования. В АТФ-зависимой реакции, катализируемой гексокиназой, глюкоза превращается в глюкозо-6-фосфат.

После изомеризации глюкозо-6-фосфата в фруктозо-6-фосфат последний вновь fosфорилируется с образованием фруктозо-1,6-дифосфата. Фос- фофруктокиназа, катализирующая эту стадию, является важным ключевым ферментом гликолиза. Таким образом, на активацию одной молекулы глюкозы расходуются две молекулы АТФ.

Фруктозо-1,6-дифосфат расщепляется альдолазой на два fosфорилированных C_3 -фрагмента. Эти фрагменты - глицеральдегид-3-фосфат и дигид-роксиакетонфосфат - превращаются один в другой триозофосфатизомеразой.

Глицеральдегид-3-фосфат окисляется глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой с образованием НАДН + Н⁺. В этой реакции в молекулу включается неорганический фосфат с образованием 1,3-дифосфоглицерата. Такое промежуточное соединение содержит смешанную ангидридную связь, расщепление которой является высокоэнергетическим процессом. На следующей стадии, катализируемой

fosфоглицераткиназой, гидролиз этого соединения сопряжен с образованием АТФ.

Следующий промежуточный продукт, гидролиз которого может быть сопряжен с синтезом АТФ, образующийся из окисления 3- фосфоглицерата, полученного в результате реакции окисления 3ФГА, в 2- фосфоглицерат (фермент фосфоглицератмутаза) и последующего отщепления воды (фермент энолаза). Продукт представляет собой сложный эфир фосфорной кислоты и энольной формы пирувата и потому называется фос- фоэнолпируватом (ФЭП). На последней стадии, которая катализируется пи- руваткиназой, образуются пируват и АТФ.

Наряду со стадией окисления ФГА и тиокиназной реакцией в цитрат-ном цикле это третья реакция, позволяющая клеткам синтезировать АТФ, независимо от дыхательной цепи. Несмотря на образование АТФ, она высоко-ко-экзоэргична и потому необратима.

В результате гликолиза из одной молекулы глюкозы образуется 2 молекулы пировиноградной кислоты и 4 молекулы АТФ. Поскольку макроэргическая связь формируется прямо на окисляемом субстрате, такой процесс образования АТФ получил название субстратного фосфорилирования. Две молекулы АТФ покрывают расход на первоначальное активирование субстрата за счет фосфорилирования. Следовательно, накапливаются 2 молекулы АТФ. Кроме того, в ходе гликолиза 2 молекулы НАД восстанавливаются до НАДН.

В процессе гликолиза молекула глюкозы деградирует до двух молекул пирувата. Кроме того, образуется по две молекулы АТФ и НАДН + Н⁺ (аэробный гликолиз).

Превращение пирувата

В анаэробных условиях пируват претерпевает дальнейшие превращения, обеспечивая при этом регенерацию НАД⁺. При этом образуются продукты брожения, такие, как лактат или этанол (анаэробный гликолиз). В этих условиях гликолиз является единственным способом получения энергии для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата. В аэробных условиях образовавшиеся 2 молекулы пировиноградной кислоты вступают в аэробную фазу дыхания.

Аэробная фаза дыхания локализована в митохондриях. Пировиноградная кислота окисляется до воды и углекислого газа в дыхательном цикле, получившем название цикла ди- и трикарбоновых кислот, или цикла Кребса, в честь английского биохимика Г. Кребса, описавшего этот путь. В этом цикле окисляется не сама пировиноградная кислота, а ее производное - ацетилкоэн- зим А. Он образуется в результате окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты. Процесс этот состоит из ряда реакций и катализируется сложной мультиферментной системой, состоящей из трех ферментов и пяти коферментов и названной пируваткарбоксилазой:



Подобный мультиферментный комплекс участвует в окислении а-кетоглутаровой кислоты в цикле Кребса. Процесс окислительного декарбоксилирования кетокислот сопровождается образованием ацил-коэнзима А с макроэргическим групповым потенциалом (схема к субстратному фосфорилированию).

Цикл Кребса

Цикл Кребса дан на слайде 8.3, где Ф₁ - цитратсинтаза (конденсирующий фермент); Ф₂ - аконитаза; Ф₃ - изоцитратдегидрогеназа; Ф₄ - а-кетоглутаратдегидрогеназа; Ф₅ - сукцинилтиокиназа; Ф₆ - сукцинатдегидрогеназа; Ф₇ - фумараза; Ф₈ - малатдегидрогеназа; Ф₉ - изоцитратлиаза; Ф₁₀ - малатсинтетаза. Включение углеродных атомов ацетильного остатка в молекулу лимонной кислоты помечено «звездочками». Пунктирными линиями изображены реакции глиоксилатного шунта.

Собственно ЦТК начинается с конденсации ацетил-КоA с молекулой щавелевоуксусной кислоты, катализируемой цитратсинтазой. Продуктами реакции являются лимонная кислота и свободный кофермент А.

Лимонная кислота с помощью фермента аконитазы последовательно превращается в цис-аконитовую и изолимонную кислоты. При этом за счет перемещения гидроксильной группы присоединении воды в молекуле изолимонной кислоты появляется группировка, $-\text{HCOH}-$, которой не было в молекуле лимонной кислоты и которую способна окислить НАД-зависимая дегидрогеназа.

Изолимонная кислота превращается в а-кетоглутаровую кислоту в реакции, катализируемой изоцитратдегидрогеназой. На первом этапе реакции имеет место дегидрирование изолимонной кислоты, в результате которого образуются щавелевоянтарная кислота и НАД-Н $+\text{H}^+$. На втором этапе щавелевоянтарная кислота, все еще, вероятно, связанная с ферментом, подвергается декарбоксилированию. Продукты реакции - а-кетоглутаровая кислота, освобождающаяся от фермента, и CO_2 .

Далее а-кетоглутаровая кислота подвергается далее окислительному декарбоксилированию, катализируемому а-кетоглутаратдегидрогеназным комплексом, в результате чего образуется сукцинил-КоА. Эта реакция - единственная необратимая реакция из десяти, составляющих ЦТК. Один из продуктов реакции - сукцинил-КоА - представляет собой соединение, содержащее высокоенергетическую тиоэфирную связь.

Следующий этап - образование янтарной кислоты из сукцинил-КоА, катализируемое сукцинилтиокиназой, в результате которого энергия, освобождающаяся при разрыве тиоэфирной связи, запасается в фосфатной связи ГТФ. ГТФ затем отдает свою фосфатную группу молекуле АДФ, что приводит к образованию АТФ. Следовательно, на данном этапе ЦТК идет субстратное фосфорилирование.

Янтарная кислота окисляется в фумаровую с помощью фермента сукцинатдегидрогеназы. Кофактором фермента является ФАД.

Далее фумаровая кислота гидратируется под действием фумаразы, в результате чего образуется яблочная кислота.

Яблочная кислота подвергается окислению, приводящему к образованию ЩУК. Реакция катализируется НАД-зависимой малатдегидрогеназой.

Этой реакцией завершается ЦТК, так как вновь регенерируется молекула-акцептор (ЩУК), запускающая следующий оборот цикла.

Энергетическим «топливом», перерабатываемым в ЦТК, служат не только углеводы, но и жирные кислоты (после предварительной деградации до ацетил-КоА), а также многие аминокислоты (после удаления аминогруппы в реакциях дезаминирования или переаминирования).

В результате одного оборота цикла Кребса происходят два декарбоксилирования, четыре дегидрирования и одно фосфорилирование. Итогом 2-х декарбоксилирований является выведение из цикла 2-х атомов углерода (2 молекулы CO_2), т. е. их выводится ровно столько, сколько поступило в виде ацетильной группы. В результате 4-х дегидрирований образуются 3 молекулы НАД-Н $_2$ и 1 молекула ФАД-Н $_2$. Как видно, в процессе этих превращений весь водород оказывается на определенных переносчиках, а потому встает задача передать его через другие переносчики на молекулярный кислород.

При окислении одной молекулы пировиноградной кислоты образуются 3 молекулы НАДН, 1 молекула НАДФН и 1 молекула ФАДН $_2$, при окислении которых в дыхательной электрон-транспортной цепи синтезируются 14 молекул АТФ. Кроме того, 1 молекула АТФ образуется в результате субстратного фосфорилирования.

ЦТК можно рассматривать как выработанный клеткой механизм, имеющий двоякое назначение. Основная функция его заключается в том, что это совершенный клеточный «котел», в котором осуществляются полное окисление вовлекаемого в него органического субстрата и отщепление водорода. Другая функция цикла - снабжение клетки рядом предшественников для биосинтетических процессов. Обычно ЦТК является дальнейшей «надстройкой» над анаэробными энергетическими механизмами клетки.

Глиоксилатный цикл

Поскольку из цикла Кребса происходит постоянный отток метаболитов для биосинтеза различных **Контрольные вопросы**, приводящий к понижению уровня ЩУК, возникает необходимость в ее дополнительном синтезе.

Это обеспечивается как в реакциях карбоксилирования пирувата или фосфоенолпирувата (см. схему гликолиза), так и с помощью последовательности из двух реакций, получивших название глиоксилатного шунта.

Он является модификацией цикла Кребса и локализован не в митохондриях, а в глиоксисомах. В этих органеллах образуется изолимонная кислота, как и в цикле Кребса. Затем под действием изоцитратлиазы она распадается на глиоксиловую и янтарную кислоты. Глиоксиловая кислота реагирует со второй молекулой ацетилкоэнзима А с образованием яблочной кислоты, т. е. в результате двух новых реакций происходит синтез Q-кислоты из двух C₂- остатков. Затем яблочная кислота окисляется до щавелевоуксусной. Янтарная кислота выходит из глиоксисомы и превращается в щавелевоуксусную кислоту.

В первой из них изолимонная кислота под действием изоцитратлиазы расщепляется на янтарную и глиоксиловую кислоты. Во второй реакции, катализируемой малатсингтетазой, глиоксиловая кислота конденсируется с аце-тил-КоА с образованием яблочной кислоты, превращающейся далее в ЩУК.

Аптомический путь

Аптомический путь катаболизма гексоз (пентозофосфатный путь окисления глюкозы, гексозомонофосфатный цикл, пентозный шунт) происходит в цитоплазме и при отсутствии света в хлоропластах. Он состоит из двух этапов:

1. Окислительный этап. Глюкоза фосфорилируется при участии гексо-киназы до глюкозо-6-фосфата. Он окисляется глюкозо-6-фосфатдегидро-геназой. Образуются восстановленный НАДФН и лактон фосфоглюконовой кислоты. Лактон произвольно или при участии глюконолактозы гидролизуется до 6-фосфоглюконовой кислоты. Она под действием фосфоглюконатдегидрогеназы с коферментом НАДФ декарбоксилируется с образованием восстановленного НАДФН и пятиуглеродного сахара рибулозо-5-фосфата. Отсюда и название аптомический путь (аптомия - усекновение).

2. Этап регенерации. Последующие реакции представляют собой цикл регенерации исходного субстрата - глюкозо-6-фосфата. Из шести молекул глюкозо-6-фосфата образуются 6 молекул CO₂ и 6 молекул рибулозо-5-фосфата, из которых восстанавливаются 5 молекул глюкозо-6-фосфата. При этом также образуются 12 молекул НАДФН, которые при окислении в дыхательной электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) могут дать 36 молекул АТФ, что не уступает энергетическому выходу гликолитического пути, но, как правило, НАДФН используется в клетке в восстановительных реакциях при синтезе различных соединений. Метаболиты аптомического пути участвуют в обмене веществ.

Электрон-транспортная цепь дыхания растений

Структурная организация ЭТЦ дыхания

Дыхательная электрон-транспортная цепь состоит из переносчиков электронов, которые передают электроны от субстратов на кислород. Расположение переносчиков определяется величиной их окислительно-восстановительного потенциала. Цепь начинается с НАДН, имеющего потенциал -0,32 В, и кончается кислородом с потенциалом +0,82 В. Переносчики расположены по обеим сторонам внутренней мембранных митохондрий и пересекают ее. На внутренней стороне мембранных расположенной к матриксу митохондрий, два протона и два электрона от НАДН переходят на флавинмононуклеотид и железосерные белки. Флавинмононуклеотид, получив протоны, восстанавливается и переносит их на внешнюю сторону мембранных, где отдает протоны межмембранным пространству. Железосерные белки, находящиеся

внутри мембранны, передают электроны от НАДН окисленному убихинону Q. Он, присоединив еще два протона, диффундирует в мембране к цитохромам. Цитохром b_{560} отдает два электрона **Коупорные вопросы:** присоединив еще два протона из матрикса, передает два электрона цитохрому b_{556} и два электрона цитохрому c , а протоны выходят в межмембранные пространство. На наружной стороне мембранны цитохром c , получив два электрона от цитохрома c , передает их цитохрому a , который переносит их через мембрану на цитохром a_3 . Цитохром a_3 , связывая кислород, отдает ему электроны. Кислород присоединяет два протона с образованием воды.

ЭТЦ митохондрий растений, в отличие от животных, включает альтернативную цианиду-устойчивую терминалную оксидазу, локализованную на внутренней мембране, альтернативную ротенону-устойчивую НАД(Ф)Н-дегидрогеназу в матриксе митохондрий, а также НАД(Ф)Н-дегидрогеназу в межмембранных пространствах, которая способна принимать электроны от НАД(Ф)Н, образующихся в цитозоле.

Комплексы переносчиков электронов

Дыхательная цепь включает четыре белковых комплекса (комплексы I, II, III и IV), встроенных во внутреннюю митохондриальную мембрану, и две подвижные молекулы-переносчики - убихинон (кофермент Q) и цитохром c. Сукцинатдегидрогеназа, принадлежащая собственно к цитратному циклу, также может рассматриваться как комплекс II дыхательной цепи.

Комплексы дыхательной цепи построены из множества полипептидов и содержат ряд различных окислительно-восстановительных коферментов, связанных с белками. К ним принадлежат флавин (ФМН (FMN) или ФАД (FAD) в комплексах I и II), железо-серные центры (в I, II и III) и группы гема (в II, III и IV).

Электроны поступают в дыхательную цепь различными путями. При окислении НАДН + Н⁺ комплекс I переносит электроны через ФМН и Fe/S-центры на убихинон. Электроны, образующиеся при окислении сукцината, ацил-КоА и других субстратов, переносятся на убихинон комплексом II или другой митохондриальной дегидрогеназой через связанный с ферментом ФАДН₂ или флавопротеин. При этом окисленная форма кофермента Q восстанавливается в ароматический убигидрохинон. Последний переносит электроны в комплекс III, который поставляет их через два гема b, один Fe/S-центр и гем c на небольшой гемсодержащий белок цитохром c. Последний переносит электроны к комплексу IV, цитохром - c-оксидазе. Для осуществления окислительно-восстановительных реакций цитохром - c-оксидаза содержит два медьсодержащих центра (Cu_A и Cu_B) и гемы a и a₃, через которые электроны наконец поступают к кислороду. При восстановлении O₂ образуется сильный основной анион O²⁻, который связывает два протона и переходит в воду. Поток электронов сопряжен с протонным градиентом, образованным комплексами I, III и IV.

Для импорта восстановительных эквивалентов в форме НАДН+Н⁺ (кофермент-связанного водорода), образующихся в цитоплазме путем гликолиза, в митохондриях имеются несколько челночных систем, например пары малат-оксалоацетат. Основной функцией этого механизма является перенос восстановительных эквивалентов в составе малата. Малат, попадая в матрикс при посредстве переносчика, окисляется до оксалоацетата (под действием малатдегидрогеназы). Оксалоацетат переносится обратно в цитоплазму лишь после трансаминирования в аспартат. Поскольку оксалоацетат может образовываться в избыточном количестве, в реакции трансаминирования и последующем транспорте принимает участие глутамат и 2-оксоглутарат.

Малатный челнок функционирует в обоих направлениях, обеспечивая перенос восстановительных эквивалентов от цитоплазматического НАДН в митохондрии без переноса НАД⁺.

Особенностью клеточного дыхания растений является наличие альтернативных путей транспорта электронов.

Образование трансмембранных потенциала протонов

Таким образом, самопроизвольный транспорт электронов по градиенту окислительно-восстановительного потенциала переносчиков сопряжен с векторным переносом протонов из матрикса в межмембранные пространство. В интактных митохондриях только АТФ-синтаза позволяет осуществить обратное движение протонов в матрикс. На этом основано важное в регуляторном отношении сопряжение электронного переноса с образованием АТФ. Возникающая разность потенциалов по обеим сторонам внутренней мембраны митохондрий используется для синтеза АТФ (окислительное фосфорилирование). В результате прохождения двух электронов по цепи образуются три молекулы АТФ.

Синтез АТФ сопряжен с обратным потоком протонов (из межмембранных пространства - в матрикс).

Немитохондриальные ЭТЦ

В растительных клетках дыхательные электрон-транспортные цепи локализованы не только во внутренней мембране митохондрий, но и в других мембранах: плазмалемме, ЭПР, мембранах микросом и т.д. Эти ЭТЦ способны окислять восстановленный НАД(Ф)Н, генерировать протонный градиент на мембранах, энергия которого используется на транспорт веществ через эти мембранные. Данные цепи укорочены, включают, как правило, флавиновый кофермент, цитохромы группы *b*, систему окисления глутатиона и аскорбата, полифенолоксидазы.

Фосфорилирование

Субстратное фотофосфорилирование

Так как синтез АТФ является высокоэндоэргической реакцией, он должен сопрягаться с другим высокоэксоэргическим процессом. В ходе эволюции сформировались два важных способа синтеза АТФ, которые реализуются во всех клетках. Наиболее эффективный способ синтеза АТФ использует энергию градиента электрохимического потенциала для образования АТФ из АДФ (ADP) и неорганического фосфата. Энергия для создания такого градиента выделяется в результате окислительно-восстановительного процесса. Этот механизм называют окислительным фосфорилированием. Транспортирующая H^+ АТФ-синтаза использует для синтеза АТФ энергию градиента потенциала. У эукариот окислительное фосфорилирование происходит только в присутствии кислорода, т. е. в аэробных условиях.

Второй, эволюционно более ранний, способ синтеза АТФ осуществляется без участия кислорода. Он основан на переносе фосфатных остатков на АДФ через метаболит с высоким потенциалом переноса фосфатных групп.

Такие процессы называют субстратным фосфорилированием, поскольку они являются частью метаболического пути («субстратной цепи»). Один из таких промежуточных этапов - образование ГТФ в цитратном цикле; вторая такая реакция, ответственная за образование макроэргических связей, осуществляется в процессе гликолиза. Для растительной клетки характерны три типа реакций, в ходе которых осуществляется субстратное фосфорилирование: окисление ЗФГА, энолазная реакция и окислительное декарбоксилирование кетокислот. Первые две - реакции гликолиза, последняя - реакция цикла Кребса.

1. Рассмотрим реакцию, катализируемую глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой. Сначала SH-группа остатка цистеина молекулы фермента присоединяет карбонильную группу глицеральдегид-3-фосфата. Этот промежуточный продукт окисляется НАД⁺ с образованием макроэргической тиол-сложноэфирной связи. На третьей стадии неорганический фосфат замещает тиол с образованием смешанного ангидрида 1,3-дифосфоглицерата. В этом соединении фосфатный остаток обладает настолько высоким потенциалом, что на следующей стадии может переноситься на АДФ.

2. Образование макроэргического группового потенциала в реакции превращения 2-фосфоглицериновой кислоты в фосфоэнолпируват связано с внутримолекулярными изменениями степени окисленности двух и трех атомов углерода при отщеплении воды.

3. Функционирование мультиферментных комплексов, катализирующих сложную многостадийную реакцию окислительного декарбоксилирования 2-кетокислот и переноса образующегося ацильного остатка на кофермент А. В качестве акцептора электронов выступает НАД⁺. Кроме того, в реакции участвуют тиаминдинфосфат, липоамид и ФАД. К дегидрогеназам кетокислот относятся:

- а) пируватдегидрогеназный комплекс (ПДГ, пируват[^]ацетил-КоА);
- б) 2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс цитратного цикла (ОГД, 2-оксоглутарат[^]сукцинил-КоА).

В пируватдегидрогеназной реакции участвуют три различных фермента. Пируватдегидрогеназа (E_1) катализирует декарбоксилирование пирувата, перенос образованного гидроксиэтильного остатка на тиаминдинфосфат (ТРР), а также окисление гидроксиэтильной группы с образованием ацетильного остатка. Этот остаток и полученные восстановительные эквиваленты переносятся на липоамид. Следующий фермент, дигидролипоамидацетил-трансфераза (E_2), переносит ацетильный остаток с липоамида на кофермент А, при этом липоамид восстанавливается до дигидролипоамида. Последний снова окисляется до липоамида третьим ферментом, дигидролипоамиддегидрогеназой (E_3), с образованием НАДН + Н⁺ (NADH + Н⁺). Электроны переносятся на растворимый НАД⁺ через ФАД и катализически активный дисульфидный мостик субъединицы E_3 .

Пять разных коферментов этой реакции различными способами ассоциированы с белковыми компонентами ферментов. Тиаминдинфосфат нековалентно связан с E_1 , липоамид ковалентно связан с остатком лизина E_2 , а ФАДочно ассоциирован в виде простетической группы на E_3 . НАД⁺ (NAD⁺) и кофермент А взаимодействуют с комплексом в виде растворимых коферментов.

Аналогичным способом осуществляется и окислительное декарбоксилирование 2-оксоглутарата. Образовавшийся сукцинил-коэнзим А фосфорилируется ортофосфорной кислотой с образованием сукцинил-фосфата и освобождением КоА. Фосфатная группа с макроэргическим групповым потенциалом передается на АДФ с образованием АТФ.

Окислительное фосфорилирование

Для объяснения механизма синтеза АТФ, сопряженного с транспортом электронов в ЭТЦ дыхания, были предложены несколько гипотез: химическая (по аналогии с субстратным фосфорилированием); механохимическая (основанная на способности митохондрий изменять объем); хемиосмотическая (постулирующая промежуточную форму трансформации энергии окисления в виде трансмембранныго протонного градиента).

В настоящее время общепринятой считается хемиосмотическая теория сопряжения электронного транспорта и фосфорилирования.

Хемиосмотический принцип сопряжения

В 1961 г. П. Митчелл предложил гипотезу, согласно которой поток электронов по ЭТЦ сопровождается транспортом протонов из матрикса в межмембранные пространство митохондрий. В результате на внутренней мембране митохондрий формируется электрохимический градиент протонов, который и является непосредственным источником энергии для синтеза АТФ. Синтез АТФ осуществляется в процессе транспорта протонов по градиенту концентрации через протонный канал АТФ-сингтетазного комплекса.

Доказательства правильности гипотезы:

- 1) действие разобщителей;

- 2) синтез АТФ в условиях искусственно созданного градиента;
- 3) транспорт ионов через внутреннюю мембрану митохондрий по градиенту заряда;

Контрольные вопросы:
4) эксперименты Рэкера с «химерами» - модельными системами, включающими фосфолипидную мембрану из соевых бобов, мембранные везикулы с АТФ-азой митохондрий сердца быка и бактериородопсин галофильной бактерии, - генерирующими протонный градиент на мембране за счет энергии света и т. д.

В настоящее время хемиосмотическая теория сопряжения окисления в ЭТЦ и фосфорилирования является общепризнанной.

АТФ-сингтаза

H⁺-транслюцирующая АТФ-сингтаза состоит из двух частей: встроенного в мембрану протонного канала (F₀) из по меньшей мере 13-ти субъединиц и катализитической субъединицы (F₁), выступающей в матрикс. «Головка» катализитической части образована тремя* - и тремя *β*-субъединицами, между которыми расположены три активных центра. «Ствол» структуры образуют полипептиды F₀-части и *γ*-, 5- и *8*-субъединиц «головки».

Катализический цикл подразделяется на три фазы, каждая из которых проходит поочередно в трех активных центрах. Вначале идет связывание АДФ (ADP) и Pi, затем образуется фосфоангидридная связь и наконец освобождается конечный продукт реакции. При каждом переносе протона через белковый канал F₀ в матрикс все три активных центра катализируют очередную стадию реакции. Предполагается, что энергия протонного транспорта прежде всего расходуется на повороту *β*-субъединицы, в результате которого циклически изменяются конформации *α*- и *β*-субъединиц.

Факторы, влияющие на окислительное фосфорилирование

Ниже представлены эти факторы. Среди них:

1) действие ингибиторов дегидрогеназ, которое выражается в препятствовании окислению субстратов, что снижает выделение водорода в дыхательную цепь. Эти ингибиторы - производные NAD, FAD; тяжелые металлы и мышьяк (III) (блокирование SH- групп дегидрогеназ); малонат - конкурент сукцинатдегидрогеназы;

2) блокирование звеньев образования протонного потенциала; барбамил, ротенон прерывают поступление H₊ от NADH, т. е. от субстратов, окисляющихся NAD- зависимыми дегидрогеназами (возможно и FAD- зависимыми); CN-, азиды, CO- блокируют цитохромоксидазы, передачу водорода на кислород. Возникает ситуация кислородного голодания, хотя кислород наличествует в избытке. Выключается протонный градиент и связанное с ним фосфорилирование. Наступает энергетический голод и прекращается жизнедеятельность (пример - ядовитость KCN);

3) действие разобщителей окислительного фосфорилирования, что способствует транспорту протонов в обход АТФ-сингтазы, прекращает фосфорилирование, но не прерывает электронный транспорт, а идет только одно дыхание (с выделением тепла). Среди таких разобщителей: протонофоры (динитрофенол и т. п.) R-COO⁻ + H₊ → R-COOH → (мембрана) → R-COO⁻ + H₊; ионофоры (полипептидные антибиотики), которые создают дыры в мембране, проходимые для ионов и протонов (валиномицин, грамицидин А и др.);

4) действие ингибиторов фосфорилирования (олигомицин), что нарушает проток протонов по каналу F₀, одновременно ингибируя синтез АТФ в активном центре F₁. Фосфорилирование прекращается, а с ним прекращается и дыхание. Протонофоры снимают угнетающее влияние ингибиторов на дыхание, хотя фосфорилирование остается подавленным.

Основные вопросы

Экология фотосинтеза

Влияние на фотосинтез температуры, условий освещения, содержания углекислоты, условий минерального питания, водоснабжения

Эколого-физиологический аспект процесса фотосинтеза важен для понимания закономерностей формирования продуктивности растений и роли фотосинтеза в адаптации растений к условиям окружающей среды. Развитие экологического направления в изучении фотосинтеза связано с такими именами, как О. В. Заленский, О. А. Семихатова, П. А. Генкель, И. А. Тарчевский, А. Т. Мокроносов, В. Л. Вознесенский.

Влияние температуры и условий освещения на фотосинтез связано с суточными и сезонными циклами. Наиболее характерна одновершинная форма суточной кривой фотосинтетического газообмена с выраженным полуденным максимумом в ясный день, пологим куполообразным максимумом в пасмурный день. В дни с переменной облачностью или под пологом леса кривая имеет пилообразный характер.

В условиях недостатка углекислого газа, при водном дефиците и перегреве листовой пластинки может проявляться полуденная депрессия фотосинтеза, приводящая к двум суточным максимумам кривой фотосинтетического газообмена. Растения можно разделить на светолюбивые и теневыносливые. Первые растут на открытых местах при полном солнечном освещении, вторые - только при затенении. Промежуточное положение занимают теневыносливые растения, что делает характеристику групп весьма условной.

Форма типичных световых кривых скорости согласуется с представлениями о том, что фотосинтез состоит из световых (фотохимических) и темновых (химических) реакций. У светолюбивых растений интенсивность фотосинтеза увеличивается линейно при возрастании облученности от нулевого значения до 20-30 % от полного солнечного света (400-500 Вт/м в полдень в области ФАР). Начиная со значений облученности 50-60 % от полного солнечного света, интенсивность фотосинтеза остается неизменной. При этом фотосинтез лимитирует темновые химические реакции, диффузия CO_2 в хлоропласти, отток из них образовавшихся продуктов фотосинтеза. Более высокий уровень инсоляции может привести к снижению скорости фотосинтеза (фотоингибирование). Наклон линейного участка световой кривой в первую очередь определяется содержанием пигментов. У светолюбивых видов он обычно меньше, чем у теневыносливых растений.

У светолюбивых насыщение фотосинтеза достигается при большей освещенности, чем у теневыносливых растений. Так, у теневыносливых растений световое насыщение фотосинтеза наблюдается при 1 кЛк, у светолюбивых древесных растений - при 10-40 кЛк, у растений высокогорья - при 60 кЛк и выше.

К числу теневыносливых относятся травянистые растения, развивающиеся под пологом леса, некоторые древесные растения, а также глубоководные морские водоросли. Светолюбивыми является большинство сельскохозяйственных и древесных растений, а также водоросли, живущие на небольшой глубине. Для светового насыщения бактериального фотосинтеза достаточно интенсивности светового потока в несколько кЛк.

В области светового насыщения интенсивность фотосинтеза значительно выше интенсивности дыхания. При снижении освещенности до определенной величины интенсивности фотосинтеза и дыхания становятся равными. Эта точка на оси абсцисс световой кривой получила название светового компенсационного пункта. Его определяют при концентрации углекислого газа в 0,03 % и температуре, равной 20 °C. У одноклеточных водорослей он соответствует нескольким десяткам люксов, теневыносливых высших растений - 250-300 Лк, у светолюбивых - 800-2000 Лк. Положение светового компенсационного пункта смещается в сторону **близких** значений

освещенности при повышении концентрации CO_2 в воздухе и в сторону высоких значений при повышении температуры.

Переход от **Контрольные вопросы**, как и резкие колебания освещенности, вызывает индукционные эффекты, во время которых скорость фотосинтеза претерпевает быстрые (в течение секунд) и медленные (в течение минут, часов) изменения. Индукционные эффекты заканчиваются стационарным уровнем фотосинтеза, который используют при экспериментальном определении влияния на фотосинтез внутренних и внешних факторов.

Сезонный ход фотосинтеза зависит от многих условий. Вечнозеленые растения южных широт фотосинтезируют круглый год, и уровень газообмена отвечает изменениям освещенности и температуры. В умеренных широтах у вечнозеленых и зимнезеленых форм в зимний период ассимиляция либо совсем прекращается, либо снижается до минимума. У растений, защищенных от зимних холодов снежным покровом, фотосинтез с наступлением благоприятных условий быстро активизируется и достигает максимальных величин с наступлением генеративных фаз развития.

Вечнозеленые органы (хвоя) и ткани древесных и кустарниковых растений (кора) теряют фотосинтетическую активность в осенний и зимний период в результате физиологических изменений, направленных на приобретение криорезистентности. В весенний период, с наступлением теплой погоды, исчезает устойчивость фотосинтезирующих тканей к морозу, а их фотосинтетическая активность возобновляется в течение нескольких дней.

Действие света на структуру хлоропласта в первую очередь связано с действием света на биосинтез хлорофилла. В условиях этиоляции в хлоропластах развивается особая структура мембран, так называемое проламеллярное тело. При переносе на свет первые тилакоиды появляются после накопления достаточного количества хлорофилла (до 30 % от нормы). Особыми условиями зеленения следует считать импульсный свет (2 минуты свет - 98 минут темноты), при котором возникает дефицит хлорофилла *b* и слабо развита гранальная структура. Подобную структуру хлоропластов демонстрируют и мутанты зеленой водоросли хламидомонады и ячменя, лишенные хлорофилла *b*.

Внутреннее строение зрелых хлоропластов зависит от интенсивности и спектрального состава света. У теневыносливых растений количество гран и число тилакоидов больше, чем у светолюбивых растений. Однако при выращивании кукурузы в условиях низкой облученности количество гранов в клетках мезофилла уменьшалось.

Фотосинтез большинства растений ограничен температурным интервалом 0-50 °С, и максимум фотосинтеза для них лежит в области 20-30° С. Часто широкое распространение определенного вида растения связано с его способностью фотосинтезировать в широком диапазоне температур. Температурный оптимум может изменяться в течение сезона. Спад фотосинтеза с повышением температуры выше 35-40° С связан с инактивацией реакционного центра ФС2. Полностью РЦ ФС2 перестают функционировать как энергетические ловушки при температуре 50° С. При 55° С нарушается передача энергии возбуждения от хлорофилла *b* к хлорофиллу *a*. При температуре выше 60-65° С перестает функционировать ФС1. Ограничение скорости фотосинтеза в области низких температур связано с темновыми реакциями, фосфорилированием. Фотохимические реакции в реакционных центрах и миграция энергии света происходят и при низких отрицательных температурах. Действие теплового и холодового стрессов может быть ослаблено или снято предварительной закалкой. Характер ответной реакции может зависеть от света и других сопутствующих факторов.

Первыми в ряду исследований взаимодействующих факторов были исследования влияния света и температуры на ассимиляцию углекислого газа. Эксперименты проводила Матеи в лаборатории Блэкмана. В результате Блэкман предположил существование экспоненциальной зависимости скорости ассимиляции от температуры.

Важным примером взаимосвязи температуры и света служит влияние температуры на световой компенсационный пункт. С понижением температуры интенсивность света **Контрольные вопросы:** дыхание, также снижается. Важным экологическим следствием этого является увеличение глубины фотического слоя в стратифицированных водных экосистемах. Следует добавить, что световой компенсационный пункт сдвигается в область низких значений при повышении концентрации CO₂, которое слабо влияет на скорость дыхания, но увеличивает скорость ассимиляции.

Структурная организация хлоропласта. Количество гран, строение тилакоидов отличается большой лабильностью. Проявляется специфика изменений структуры ламелл при недостатке элементов минерального питания. При недостатке азота в листьях фасоли уменьшалось число гран, количество тилакоидов в них, деградировали тилакоиды стромы. Недостаток фосфора вызывал уменьшение числа гран и развитие агранальной структуры. С другими многочисленными примерами вы сможете познакомиться при самостоятельном изучении курса.

Эффективность световых и темновых реакций связана с различными минеральными элементами, присутствие которых зависит от состава почвенного раствора, эффективности поглощения и транспорта. В большинстве работ рассмотрено влияние дефицита минеральных веществ на состояние фотосинтетического аппарата. Изучение особенностей этих эффектов в рамках данного курса предусмотрено в качестве самостоятельной работы.

Водный потенциал листа определяют как меру активности воды в тканях по сравнению с активностью чистой воды ($a_w=1$). Для регуляции водного потенциала в межклетниках листа растения сухи используют активное движение устьиц. У влаголюбивых растений устьица начинают закрываться при снижении водного потенциала до минус 4 атм, а у устойчивых к засухе полевых растений при минус 16-17 атм. Максимальная активность фотосинтеза наблюдается при небольшом водном дефиците (8-15 %).

На принципиальные промежуточные процессы фотосинтеза, такие, как работа реакционных центров фотосистем, транспорт электронов, фотофосфорилирование, восстановление ФГК, водный дефицит при значительном обезвоживании действует угнетающе (общая потеря воды тканями листа при этом может достигать 50-60 %). Потеря воды в большинстве случаев действует неспецифично, посредством подавления активности пластидных и цитоплазматических ферментов. Для характеристики различий взаимосвязи между водным балансом и продуктивностью у разных растений используют коэффициент транспирации (H₂O, л/1 кг сухого вещества). Колебания этого показателя составляют от 87 у геофитов до 600 у культурных растений. Длительные периоды потери воды сопровождаются перестройкой фотосинтетического аппарата, начиная с количества и размера листьев и заканчивая тонкой структурой хлоропластов.

Фотосинтез в онтогенезе растения

У древесных и кустарниковых растений онтогенез листа почти не зависит от возраста самого растения. Весной листья распускаются практически одновременно и в течение сезона их развитие синхронизировано. У травянистых растений, наоборот, листья появляются последовательно друг за другом, и чем больше возраст растения, тем больше различий у старых и молодых листьев. В пределах листовой пластинки у двудольных растений в мозаичном порядке расположены относительно молодые и относительно старые клетки. У листьев однодольных растений возраст клеток увеличивается от основания к верхушке.

Интенсивность фотосинтеза в начале развития листа возрастает вместе с ростом концентрации хлорофилла. После полного развития листа его фотосинтетический потенциал поддерживается на высоком уровне от нескольких недель до травянистых

растений до нескольких месяцев - у древесных. В ходе старения листа интенсивность его фотосинтетического газообмена быстро снижается. При этом отмечаются эффекты разобщения потока **Контрольные вопросы** ГФ, преимущественная потеря активности у ФС2 по сравнению с ФС1. Период активного фотосинтеза у листьев зависит от общего гормонального статуса растений. Обрезка деревьев и кустарников продлевает период активного роста листьев и усиливает работу фотосинтетического аппарата.

Хорошо исследовано изменение фотосинтеза в онтогенезе хвойных растений. Наиболее интенсивный фотосинтез наблюдают в период интенсивного роста побегов. С увеличением возраста побега показатели СО₂ газообмена снижаются. Суточные балансы СО₂ становились положительными, когда в период роста хвоя достигала длины 12-13 мм.

Л-10 Физиологические основы роста и развития растений

Основные вопросы

Общие представления о росте и развитии растений

Рост и развитие - наиболее сложные процессы в жизнедеятельности организма. Они непосредственно связаны с питанием, водным режимом, транспортом веществ, двигательной активностью, механизмами коррелятивных взаимодействий всех частей целого растения.

Историю изучения роста и развития растений можно разделить на четыре периода:

1. Описание процессов роста и развития («Учение о растениях» Аристотеля, «О причинах растений» Феофраста, теория эпигенеза К. Ф. Вольфа, «Опыт объяснения метаморфоза растений» И. В. Гете, клеточная теория М. Я. Шлейдена и Т. Шванна, работа К. Негели по изучению развития верхушечных меристем и образования из них органов и тканей, открытие чередования поколений у споровых, доказательство полового размножения у растений, описание строения семяпочки и зародышевого мешка, процесса оплодотворения, образования зародыша, развития эндосперма в работах В. Гофмейстера, С. Г. Навашина и др.);

2. Изучение влияния внешних факторов, названное К. А. Тимирязевым «экспериментальной морфологией» (работы Т. А. Найта, А. С. Фаминцына, Ю. Сакса, Г. Фехтинга, Г. Клебса, Г. Гасснера, У. У. Гарнера и Г. А. Алларда);

3. Поиски внутренних факторов роста и развития (Сакс доказал, что в растительных тканях функционируют органообразующие вещества,

Ч. и Ф. Дарвина доказали, что апекс стебля вырабатывает химический стимул, который перемещается в нижележащие зоны и вызывает ускорение их роста, Ф. Вент и Ф. Кегль определили его химическую природу, Д. Н. Нелюбов показал, что этилен обладает сильным морфогенетическим действием. Были открыты другие фитогормоны, М. Х. Чайлахян разработал гормональную теорию развития растений, предположив, что их цветение индуцируется специальным гормоном - флоригеном. В середине XX века началось изучение роли генов в процессе роста и развития);

4. Выяснение механизмов роста и морфогенеза. (Интенсивно изучаются механизмы деления, растяжения и дифференцировки клеток, роль экспрессии генов в этих процессах; выдвинута гормональная теория тропизмов Вента - Холодного; Х. Бортвик и С. Хендрикс открыли фитохром, принимающий участие в процессах фотопериодизма и фотоморфогенеза; активно изучаются молекулярные механизмы действия фитогормонов; доказано, что поляризация клеток может быть связана с функциональной активностью мембран; выдвинута концепция определяющей роли колебательных процессов в явлениях самоорганизации живых организмов и т.д.).

Рост и развитие растений - неотъемлемые свойства живого организма. Эти процессы тесно взаимосвязаны, так как обычно организм и растет, и развивается. Однако темпы роста и развития могут быть разными: быстрый рост может сопровождаться медленным развитием, и наоборот.

Критерии темпов роста - скорость нарастания массы, объема, размеров растения. Критерием темпов развития служит переход растений к воспроизведению и репродукции. Следует отметить, что здесь нетождественность этих понятий, но и позволяет рассматривать процессы роста и развития последовательно. Они находятся под контролем генома и регулируются рядом внутренних и внешних факторов. Для растения определяющее значение имеет согласованность взаимодействия внешних и внутренних факторов, участвующих в регулировании этих процессов.

Рост и развитие растений - сложный процесс, в основе которого лежат такие фундаментальные явления, как ритмичность, полярность, дифференциация, раздражимость, корреляция. Об этих явлениях поговорим в следующих лекциях.

Рост представляет собой одно из наиболее легкообнаруживаемых проявлений жизнедеятельности растений, так как при этом увеличиваются размеры растительных органов и тканей. Однако он не всегда сопровождается увеличением размеров и массы растения. Не всякое увеличение размеров свидетельствует о росте. Д. А. Сабинин писал, что рост нельзя сводить только к увеличению растительной массы, поскольку при этом происходит «новообразование элементов структуры организма».

Следовательно, под термином «рост» понимают необратимое увеличение размеров и массы клетки, органа или всего организма, связанное с новообразованием элементов их структур. Данное понятие отражает количественные изменения, сопровождающие развитие организма или его частей. Этот процесс происходит на разных уровнях организации организма (субклеточном, клеточном, органном и организменном), т. е. можно говорить о новообразовании органелл клеток, органов, росте организма и даже популяции. Определение, данное выше, подчеркивает то, что рост, как процесс, не прерывается в течение жизни растения, а меняются лишь его формы.

Однако одновременно с новообразованием элементов структуры в растении совершается противоположный процесс - деструкция. Например, в ходе образования сосудов в соответствующих клетках постепенно разрушаются протопласты. В ходе образования бокового корня идет разрушение сформированных клеток первичной коры главного корня. Как отмечают В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева, необходимо различать истинный и видимый рост. Истинный рост - это новообразование структур. Видимый рост - это баланс новообразования и деструкции. Для роста нужны строительные материалы и вещества, регулирующие этот процесс. В качестве них используются питательные вещества, поступающие в клетку извне, а также находящиеся в ней

запасные вещества. Для роста необходимо наличие специальных веществ - регуляторов: гормонов, витаминов и др.

Растение, в отличие от животного, постоянно сохраняет способные к росту эмбриональные ткани, и его рост продолжается в течение всей жизни организма. Высшее растение живет и питается одновременно в двух средах: побеги - в воздушной среде; корни - в почве. Так как верхушка побега и кончик корня, как правило, первыми встречаются с новой ситуацией, то на этих участках локализованы многие рецепторные системы, позволяющие воспринимать изменения во внешней среде и адекватно на них реагировать.

Закономерности, типы роста

Основой роста является образование новых клеток и их рост, сопровождаемые их дифференциацией. Еще со времени Ю. Сакса рост клеток принято делить на три фазы: эмбриональную; растяжения; дифференцировки. Такое разделение носит условный характер. За последнее время внесены изменения в само понимание основных особенностей, характеризующих эти фазы роста. Если прежде считалось, что процесс деления клетки происходит лишь на эмбриональной фазе роста, то сейчас доказано, что клетки могут иногда делиться и на фазе растяжения.

Характерной чертой ростовых процессов растительных организмов является их

локализация в определенных тканях - меристемах. Они расположены по-разному в отдельных органах.

У стеблей и **корневищ** занимает так называемое терминальное положение, при котором он и молодые клетки составляют морфологически верхнюю часть органа. В связи с этим и стебли, и корни растут своими верхушками.

Такой рост называют апикальным. Однако в то время как у надземных органов конус нарастания занимает довольно обширную зону, у корней активный рост сосредоточен в более ограниченной зоне. Так, если длина зоны роста у надземных органов (стебли) от 2-4 до 30 см и более, то длина зоны роста у корней, растущих в земле, как правило, не превышает 10 мм, а длина этой зоны у воздушных корней достигает 100 мм и больше. Характер роста одного и того же органа может варьироваться в зависимости от видовой специфики растения. У злаков рост стебля осуществляется у оснований междуузлий. Такой тип расположения зоны активного роста между сформировавшимися, закончившими свое развитие тканями носит название интеркалярного (вставочного) роста. Расположенная у основания междуузлий и охваченная листовыми влагалищами вставочная меристема у злаков остается активной на протяжении длительного времени. Этим обусловлена способность полегших злаков подниматься даже в тех случаях, когда полегание произошло на поздних этапах развития растений.

В случае базального роста зона нарастания находится у основания органа, а закончившие рост ткани - выше зоны роста. Такое расположение встречается у листьев злаков, трав и других однодольных растений, а также у цветочных стрелок. Все эти органы растут у своих оснований.

Иной тип роста характерен для листьев многих двудольных. Например, у табака рост осуществляется по всей периферии листа с близкой для всех его частей скоростью.

Латеральные меристемы обеспечивают рост стебля в толщину. Клетки камбия делятся в тангенциальном направлении, вследствие чего они расположены всегда правильными радиальными слоями. В результате деления камбия образуются элементы ксилемы и флоэмы, причем количество ксилемных элементов значительно выше количества элементов флоэмы. Паренхимные клетки сердцевидных лучей, разделяющие камбальные пучки, под влиянием продолжающейся деятельности пучкового камбия также становятся деятельными, они индуцируют клетки стеблевой паренхимы.

Итак, клетки меристемы делятся, дочерние клетки достигают размеров материнской и снова делятся. Однако размер и объем меристем остаются постоянными, что связано с тем, что большинство меристематических клеток - через несколько делений переходят к росту растяжением. Но есть инициальные клетки, которые делятся в течение всей жизни органа. Доказано, что апикальные меристемы состоят из двух типов клеток, отличающихся функциями и способностью к делению.

Меристематические клетки, расположенные на самом верху стебля или корня, не прекращают деления в течение всего периода роста. Эту зону роста для корня называют покоящимся центром, для стебля - меристемой ожидания. Более длительная способность к делению является следствием меньшей частоты делений и большей длительности интерфазы.

Клетки характеризуются большей длительностью митотического цикла, большей устойчивостью к неблагоприятным воздействиям.

В них реже возникают хромосомные aberrации. Клетки меристемы ожидания стебля менее дифференцированы. На фазе деления клетки, находящиеся в нижней части меристемы, начинают дифференцироваться. В них накапливаются физиологические и морфологические различия, обусловленные местоположением клетки, взаимодействием ее с другими клетками, а также генетической программой,

которая в ней заложена.

Кинетика ростовых процессов

Если проследить **Контрольные вопросы**, части органа или всего растения на протяжении всего периода роста, то можно обнаружить большой период роста (закон Ю. Сакса, 1872 г.): медленный, постепенно ускоряющийся подъем скорости роста до максимума, который в течение того или иного времени остается постоянным, затем снижение до нуля. Прирост длины, объема, веса и т. д. идет по S-образной кривой, поэтому говорят о S-образном ходе роста.

На этой кривой выделяют несколько характерных участков: латентная, или лаг - фаза, во время которой отсутствует видимый рост; фаза экспоненциального роста (лог - фаза); фаза замедленного роста.

Во время лаг - фазы происходят процессы, подготавливающие видимый рост. Во время лог - фазы идет активный синтез гормонов и строительных материалов. Считают, что именно эта фаза и является «периодом большого роста». На фазе замедления роста число клеток, участвующих в митозах, постепенно уменьшается, нарастает вакуолизация. Замедление роста объясняется рядом внешних и внутренних факторов. Оно генетически запрограммировано, однако находится под влиянием внешних факторов.

Продолжительность фаз может значительно колебаться, в зависимости от внешних и внутренних факторов. Например, лаг - фаза у прорастающего семени может длиться от нескольких часов до многих месяцев. Увеличение продолжительности связывают с отсутствием стимуляторов или избытком ингибиторов роста, недоразвитием зародыша, недостатком воды или кислорода, отсутствием оптимальных температур.

Закон Ю. Сакса универсален. Однако наследственность и внешние факторы оказывают на него свое влияние; поэтому кривые Сакса могут иметь разную форму, то есть они специфичны. В некоторых случаях скорость роста может описываться и многовершинной кривой. Это наблюдается у косточковых плодов, рост которых на фазе максимального роста временно замедляется или совсем приостанавливается, или у цветоножек с максимумами во время образования цветков и завязывания плодов.

С неравномерностью роста связано изменение важнейших физиологических процессов.

Интенсивность роста растения или отдельных его органов определяют, измеряя длину, объем, поверхность, вес сырой и сухой биомассы растения и т. д. Определяют абсолютную скорость роста (прирост за какой-то промежуток времени); относительную скорость роста (прирост, вычисленный в процентах от исходного роста); удельную скорость роста, т. е. скорость превращения живой биомассы растения (или органа) за единицу времени.

Основные этапы развития растений

Развитие - это качественные изменения структуры и функциональной активности растения и его частей (органов, тканей, клеток) в процессе онтогенеза. Возникновение качественных различий между клетками, тканями и органами получило название дифференцировки. В понятие «развитие» входят также и возрастные изменения. Развитие высших растений подразделяют на четыре возрастных этапа: эмбриональный; ювенильный; репродуктивный (зрелость); старость.

Эмбриональный этап онтогенеза семенных растений - развитие зародыша от зиготы до созревания семени включительно.

Ювенильный этап - этап молодости - включает прорастание семян или органов вегетативного размножения и характеризуется накоплением вегетативной массы. Растения в этот период, как правило, не способны к половому размножению.

Репродуктивный этап - этап зрелости и размножения - характеризуется готовностью к зацветанию, заложением репродуктивных органов (цветков, органов

вегетативного размножения), их ростом и развитием, формированием семян и плодов.

Этап старости и отмирания - период от полного прекращения плодоношения до естественной смерти.

Контрольные вопросы:

Каждый из этих этапов включает, как правило, несколько фаз, закономерно следующих друг за другом.

Развитие организма зависит от генетической программы развития и повторяется из поколения в поколение. Закодированы не только морфологические признаки, но и время их появления. Развитие организма - это необратимое явление, так как в течение жизненного цикла происходят необратимые структурные и возрастные изменения всего организма, клеток, тканей, органов, усложняются взаимоотношения между частями растения. Однако в различных внешних условиях генетическая программа может реализовываться разными путями, давая разные модификации.

Таким образом, можно констатировать, что высшее растение - это прикрепленный фототрофный организм, который характеризуется постоянным ростом, наличием двух основных регуляторных центров (верхушка побега, кончик корня), высокой способностью к вегетативному размножению и регенерации. Его процессы роста и развития находятся под контролем генома и регулируются рядом внутренних и внешних факторов.

Реализация каждой генетической программы развития осуществляется при постоянно изменяющихся условиях внешней среды. Поэтому для растения определяющее значение имеет согласованность влияния внешних и внутренних факторов, участвующих в регулировании процессов роста и развития каждой клетки и всего организма в целом. Наиболее важные отличия растений от животных организмов касаются особенностей их роста и развития.

В связи с этим можно выделить три принципиальных различия: во-первых, растения, в отличие от большинства животных, способны размножаться неполовым, вегетативным, путем; во-вторых, у растений очень высоки скорость и способность к регенерации при повреждении (за счет клеток меристематических тканей, а также дедифференцировки некоторых клеток в меристематические, образования каллусных тканей и формирования новых очагов деления и роста); в-третьих, растения растут в течение всей своей жизни; для них особенно важно функционирование апикальных меристем верхушки побега и корня, в которых постоянно идут процессы деления клеток; основной тип роста, за счет которого осуществляется наращивание массы растения, -растяжение.

Способность клеток к дифференцировке и формированию нового организма называют totipotентностью.

Фазы роста растений и их характеристики

Клеточные основы роста

Рост растений происходит в течение всего онтогенеза и обеспечивается постоянным функционированием апикальных меристем, которые формируют все части растительного организма. Апикальные меристемы главного побега и корня закладываются на ранних этапах развития зародыша. Они функционируют как два постоянно действующих эмбриональных центра роста. В основе роста лежит увеличение числа и размеров клеток, сопровождаемое их дифференциацией. Фазы роста - эмбриональная, растяжения и дифференцировки, но, как мы уже отмечали, такое деление носит условный характер, т. к. клетки могут делиться и на фазе растяжения. Важно то, что дифференцировка клетки (в смысле появления и накопления внутренних физиологических различий между ними) происходит на протяжении всех фаз и является важной особенностью роста клеток. На третьей фазе эти физиологические различия лишь получают внешнее морфологическое выражение. Все же ряд существенных отличий между фазами роста имеются, и это позволяет рассматривать их отдельно.

На эмбриональной фазе на конце растущей зоны находится эмбриональная ткань - первичная меристема. Состоит из одинаковых мелких клеток, имеющих тонкие оболочки, нет централизации, **цитоплазма** заполнена протоплазмой. Клетки делятся, при этом их размеры остаются более или менее постоянными. Вслед за делением происходит увеличение массы живого вещества в каждой новой клетке до тех пор, пока она не достигнет размера материнской, после чего клетка делится. Увеличение размеров на этой фазе роста невелико. Эта фаза состоит из двух периодов: периода между делениями (интерфаза) и собственно деления клетки. Структура клетки на интерфазе имеет ряд особенностей: густая цитоплазма с хорошо развитой ЭПС, каналы которой узки, малое количество расширений, мелкие вакуоли, большое количество рибосом, многие из которых свободно располагаются в цитоплазме, много митохондрий, но у них слабо развиты кристы и густой матрикс; ядро - небольшого размера с крупным ядрышком; первичная клеточная оболочка пронизана плазмодесмами. Процессы обмена веществ интенсивны. Происходит самовоспроизведение ДНК.

В этот период происходят основные синтетические и энергетические процессы. Перед делением заметны изменения в энергетическом состоянии клетки. Во время интерфазы клетка имеет высокий энергетический потенциал (АТФ/АМФ). При переходе к митозу, благодаря глубокой структурной перестройке, наступает энергетическая разрядка - и энергия выделяется в виде коротковолнового излучения (В. Н. Жолкевич). В этот период интенсивность процессов обмена, в том числе и дыхания, падает.

Таким образом, на первой фазе роста увеличение объема происходит за счет деления и возрастания массы протоплазмы. Уже на этой фазе рост сопровождается формообразовательными процессами. Процесс деления клеток зависит от соотношения ауксинов и цитокининов в ткани. Ключевыми ферментами, регулирующими вхождение клетки в клеточный цикл, переходы от одной фазы клеточного цикла к другой (Gi-S-02-митоз), являются циклинза-висимые протеинкиназы.

На фазе растяжения идут значительные структурные и физиологические изменения. Объем клетки возрастает в 20-50 раз и даже в 100 раз. Особенности этой фазы: цитоплазма менее вязкая, более обводненная, каналы ЭПС расширяются; рибосомы прикрепляются к ЭР; изменяются митохондрии; увеличивается контакт митохондрий и ш.ЭПС. Кроме того, увеличивается поверхность ядра, уменьшается ядрышко. Мелкие вакуоли сливаются в одну, где накапливаются гидролитические ферменты, в вакуолях увеличивается содержание сахаров, аминокислот, т. е. растет содержание осмотически активных веществ. В клетке усиливаются метаболические процессы. Возрастание синтеза отдельных белков-ферментов происходит неравномерно, меняется их соотношение, что приводит к различным биохимическим и физиологическим особенностям. Повышается активность протеолитических ферментов, что способствует обновлению белков. Возрастает количество низкомолекулярных веществ как в цитоплазме, так и в вакуоли. Происходит необратимое увеличение объема, в основном - за счет усиленного поступления воды. Усиливается рост клеточной оболочки за счет новообразования ее составляющих.

Рост растяжением включает следующие этапы: рыхление связей между компонентами клеточной оболочки и увеличение ее пластичности (происходит снижение рН, что способствует разрыву как водородных, так и ковалентных связей между компонентами клеточной оболочки); поступление воды, которая давит на стенки, вызывая растяжение и увеличение объема клетки; закрепление увеличения объема путем многосетчатого роста оболочки (или образовавшиеся микрофибриллы целлюлозы внедряются в промежутки между старыми микрофибриллами, или сетка вновь образовавшихся микрофибрилл целлюлозы накладывается на старую). Процесс растяжения клеток контролируется ИУК. Это вызывает активацию липазированной в

плазматической мемbrane Н⁺- АТФазы и подкисление фазы клеточных стенок, что и приводит к их размягчению и растяжению.

На фазе **дифференциации**, зависимости от концентрации гормонов, питательных веществ, энергетических зарядов и т. д., происходят дерепрессия или репрессия определенных участков генома и, как следствие, морфологическая, биохимическая и функциональная дифференциация. Условия, способствующие этому, таковы: полярность; неравномерное деление; поверхностные свойства клеток. Ряд авторов считают, что отдельные ткани выделяют особые морфогенетические вещества, источник которых в первую очередь - меристема. Они участвуют в дифференциации клеток.

Дифференцировка - превращение эмбриональной клетки в специализированную. У клетки утолщаются клеточные оболочки за счет наслоения гемицеллюлозы и лигнина. Выросшие клетки дифференцируются, образуя различные ткани. На этой фазе клетки не увеличиваются в размере, количество их остается прежним; поэтому линейный рост незначителен.

Существует три типа дифференцировки: структурная, или морфологическая, - это возникновение различий по морфологическим признакам (на клеточном уровне она выражается в различной толщине и структуре клеточной стенки, форме клеток, разной степени их вакуолизации, особенностях развития тех или иных органелл); биохимическая - возникновение различий по составу белков-ферментов, способности к синтезу запасных веществ или вторичных метаболитов и другие изменения в клетке, влияющие на обмен веществ; физиологическая (функциональная) - формирование различий, приводящих к выполнению разных функций. Биохимическая дифференцировка предшествует ее другим типам. На этой фазе возникает много клеток; при этом может происходить как усложнение, так и упрощение их структуры.

Таким образом, на каждой фазе идет рост клетки и новообразование ее структур; значительное же увеличение размеров клетки характерно только для фазы растяжения.

Особенности роста органов растений

В результате деления, растяжения и дифференцировки клеток возникают ткани и органы. У растений эти процессы происходят в меристемах. В апикальной меристеме побега различают тунику, или мантию, и корпус. Туника состоит из одного-трех или более поверхностных рядов клеток, которые делятся антиклинально (плоскость их деления и соответственно новые клеточные стенки перпендикулярны поверхности апекса). За счет антиклинальных делений происходит рост поверхности апикальной меристемы. Меристематические клетки, лежащие под туникой, называют корпусом. Его клетки делятся как антиклинально, так и переклинально (плоскость деления и новые клеточные стенки параллельны поверхности), что приводит к увеличению объема апикальной меристемы.

На основании преимущественной ориентации клеточных делений, формы и размера клеток, содержания РНК и функционального предназначения клеток в апексе выделяют три зоны: апикальную (центральную), субапикальную (стержневую) и периферическую (органогенную). Особенности апикальной меристемы: материнские клетки корпуса крупнее, вакуолизированные, ядро крупное, низкое содержание РНК в цитоплазме; во время вегетативного роста они делятся реже, чем другие клетки апикальной меристемы, заторможенность делений связана с длительностью периода G₁; когда апикальная меристема побега получает флоральный импульс и начинает формировать органы цветения, деление клеток в этой зоне активируется. На основании этого французский цитофизиолог Р. Бюва назвал данную зону «меристемой ожидания».

Особенности периферической меристемы: мелкие клетки с плотной цитоплазмой и большим числом рибосом; зона дает начало первичной коре и прокамбию; в ней происходит закладка примордиев боковых органов вегетативного побега - листьев, пазушных почек. Особенности сердцевинной меристемы: вакуолизированные клетки с

низким содержанием РНК образуют вертикальные клеточные ряды; эта меристема формирует сердцевину стебля. Ни одну из этих зон (кроме первого слоя клеток туники, формирующего эпидермис) гистогеном, т. к. они не формируют какую-либо определенную систему тканей в теле растения, их границы изменчивы и не всегда различимы.

Апикальная меристема корня является гетерогенной популяцией клеток, отличающихся размерами и продолжительностью клеточного цикла. В апексе корня имеются три гистогена (теория И.Г анштейна), из которых формируются ткани корня. Верхушечная меристема корня, в отличие от верхушечной меристемы стебля, короче и не образует боковых органов. Однако она образует не только клетки самого корня, но и клетки корневого чехлика. Между активной меристематической зоной и корневым чехликом тоже имеется покоящийся центр.

Особенности покоящегося центра (ПЦ): низкая скорость синтеза нуклеиновых кислот и белка; скорость деления в 10 раз меньше скорости деления соседних меристематических клеток, меньшее количество плазмодесм и т. д.; клетки устойчивы к стрессовым факторам, в связи с этим ПЦ способен осуществлять регенерацию апикальной меристемы при ее повреждении. Активация делений в ПЦ происходит при выходе растений из состояния покоя, удалении корневого чехлика, гибели части клеток проксимальной меристемы клеток ПЦ.

Причина замедленного деления клеток в ПЦ: интенсивная митотическая активность окружающих клеток, которые перехватывают питательные вещества и фитогормоны; действие АБК. Меристематические клетки находятся на эмбриональной фазе. Растигивающиеся клетки составляют зону растяжения корня или стебля. В результате в таких органах, как стебель и корень, можно выделить зону интенсивного роста органа, наличие которой является одним из отличий роста растений от роста животных. В листе деления на зоны нет; среди растягивающихся есть делящиеся клетки, а дифференцировка может совпадать с растяжением.

У животных в течение жизни происходит лишь увеличение размеров заложенного перед рождением органа, а у растений - заложение и увеличение размеров органа идет параллельно в течение всего онтогенеза. Имеются различия и в характере роста отдельных органов самого растения. Стебли и корни растут своей верхушкой, у листьев рост происходит в основном у основания. При этом рост листьев ограничен. Кстати, ограниченный рост характерен и для животных. Рост корней и стеблей растения не ограничен и продолжается в течение всей жизни.

Корреляции ростовых процессов различных органов, регенерация

Все органы растения взаимосвязаны, влияют на рост друг друга. Влияние одних частей организма на скорость и характер роста других называют корреляцией. Механизмы взаимодействия частей растительного организма, сформированные в ходе развития зародыша, продолжают функционировать и усложняются в течение дальнейшего онтогенеза растения. Это взаимодействие происходит с участием трофических факторов, фитогормонов и электрических явлений, причем особую роль играют функциональная активность апикальных меристем побега и корня (доминирующих центров) и посылаемые ими сигналы.

В растении осуществляется регуляция процессов роста и морфогенеза, функциональной активности и двигательных реакций. В начале развития в растение закладываются все его органы, затем идут прорастание и переход к автотрофному типу питания, формирование вегетативной массы, осуществление процессов полового и вегетативного размножения.

На всех этих этапах происходит перестройка коррелятивных связей, что обеспечивает выполнение последовательно включающихся генетических программ. Важнейшим элементом этих процессов является относительный рост различных частей, т. е. коррелятивный рост.

Побег и корень - две главные части растения. Они выполняют функции воздушного и корневого питания. Главными факторами коррелятивных взаимосвязей «побег - корень» **Контрольные вопросы**: Верхушка побега и в меньшей степени молодые листья синтезируют и экспортируют ИУК, которая ответственна за включение общей генетической программы корнеобразования и влияет на рост и морфогенез корня. Кончик корня вырабатывает ци-токинины, которые поступают в надземную часть; они ответственны за включение программы побегообразования, рост и функциональную активность листьев. Следовательно, между верхушкой побега и кончиком корня с помощью фитогормонов устанавливается обратная положительная связь, что лежит в основе саморазвития целого растительного организма.

Цитокинин корней активирует синтез белков, хлорофилла, оказывает поддерживающее влияние на функциональную активность зрелых листьев, создавая условия для интенсивного фотосинтеза. Цитокинин способствует открыванию устьиц, что благоприятствует фотосинтезу. Из корней в надземную часть транспортируются гиббереллины, затем они начинают вырабатываться в формирующихся листьях, рост которых стимулируется цитокининами корней.

Цитокинины и гиббереллины активируют синтез и транспорт ауксина. В корнях синтезируются метаболиты, необходимые для побега. Между побегом и корнем регистрируются электрические градиенты, генерируется потенциал действия при изменении условий среды. Возникает сложная многофакторная система взаимосвязей с участием гормональных, трофических, электрических компонентов и соответствующих рецепторов в клетках.

В ходе онтогенеза лидерство доминирующих центров и их взаимосвязи меняются. Между всеми органами побега также существуют коррелятивные взаимоотношения. Развивающаяся апикальная почка ингибирует рост пазушных почек, т. к. апикальная почка главного побега вырабатывает большое количество ИУК, что позволяет ей конкурировать с пазушными почками за трофические факторы и фитогормоны, прежде всего - за цитокинины.

Хорошо выражено явление апикального доминирования у корней. Боковые корни не появляются вблизи апекса корня. Все эти ростовые корреляции связаны с деятельностью апикальной меристемы корня и поступлением ИУК из надземной части. Следовательно, роль ауксина в апикальной почке заключается в создании мощного аттрактирующего центра, в результате чего не только питательные вещества, но и цитокинин, образовавшийся в корнях, поступает преимущественно в апикальную почку.

Приток цитокинина к пазушным почкам после устранения апикальной усиливает в них клеточное деление. Формирующиеся в почках листовые зачатки начинают синтезировать ауксин, необходимый для дальнейшего стабильного развития боковых побегов. Развивающаяся верхушечная почка также влияет на рост клеток в зонах растяжения побега и корня, индуцирует формирование проводящих пучков. Ориентация листьев, боковых побегов и корней зависит от функциональной активности верхушки.

Цитокинин синтезируется в кончике корня и с ксилемным соком перемещается в верхушки побегов и в листья. Он контролирует образование промордиев листьев, их рост и трофику. В апексе корня вырабатывается АБК, который наряду с ИУК, участвует в регуляции роста корня. Гормональное взаимодействие доминирующих центров побега и корня - важнейший эндогенный механизм роста и морфогенеза в целом растении. К этому добавляется взаимодействие доминирующих центров с листьями, вырабатывающими гиббереллины и АБК (В. В. Полевой).

Таким образом, один из важнейших механизмов коррелятивного роста - это донорно-акцепторные отношения. В результате корреляции могут меняться скорость и характер роста, расположение органов в пространстве. Корреляция связана с

полярностью.

Полярность организма - это специфическая ориентация активности в пространстве. Ее **Контрольные вопросы:** регенерации - восстановлении организмом утраченных или поврежденных частей тела, органов. Регенерация возможна благодаря totипотентности клеток. В естественных условиях регенерация - способ защиты растений и основа вегетативного размножения.

Если исходить из физиологических механизмов, то способы регенерации можно классифицировать следующим образом: физиологическая; травматическая. Регенерация, обусловленная дедифференцировкой клеток: а) заживление ран; б) органогенез, обусловленный образованием каллуса; в) восстановление частей без образования каллуса; г) соматический эмбриогенез. Регенерация с участием меристем: а) восстановление апикальной меристемы; б) органогенез из предшествующих зачатков; в) органогенез из новообразованных адвентивных зачатков.

В ходе физиологической регенерации восстанавливаются части, претерпевшие естественное изнашивание. Пример - постоянное восполнение слущивающихся клеток корневого чехлика, замена старых элементов ксилемы новыми и т.д.

Травматическая (репаративная) регенерация бывает 2-х видов: регенерация, обусловленная дедифференцировкой клеток; регенерация с участием мерисистем. Вот примеры регенерации, обусловленной дедифференцировкой клеток, заживление ран: ткани, оказавшиеся на поверхности раны, дедиффе-ренцируются, их клетки начинают периклинально делиться, образуют фелло-ген, превращающийся в пробку; поверхность раны может затягиваться каллусной тканью; начальный этап дедифференцировки клеток на поверхности раны аналогичен описанному выше.

Клетки, дедифференцируясь, переходят к неорганизованному делению, возникает каллусная ткань.

При соматическом эмбриогенезе каллус на поверхности образуется так, как описано выше. Из отдельных клеток каллуса, начинающих организованно делиться, формируются соматические зародыши, из которых может развиваться целый организм.

При восстановлении частей без образования каллуса идет формирование адвентивных побегов из единичных эпидермальных клеток на некотором удалении от раневой поверхности, а также превращение паренхимных клеток коры в клетки ксилемы при образовании обходного участка проводящего пучка вокруг места его прерывания.

Направление регенерации проводящих элементов определяется прежде всего базипетальным транспортом ауксина, который индуцирует генетическую программу ксилемообразования. Другие пути восстановления утраченных частей у растений связаны с деятельностью апикальных или латеральных меристем.

Регенерация с участием меристем наблюдается при восстановлении апикальной меристемы. При продольном рассечении конуса нарастания из каждой половины могут регенерироваться отдельные апексы. Конус нарастания как побега, так и корня регенерируется при удалении небольшого участка его дистального конца. У развивающегося молодого листа папоротника восстанавливается отрезанная меристематическая верхушка.

Органогенез из предшествующих зачатков осуществляется при восстановлении надземных органов у высших растений за счет отрастания покоящихся почек (при устраниении доминирующего влияния апикальной почки побега).

Повреждение или частичное удаление дистальной части корневой системы способствует росту зачатков боковых корней вследствие устраниния действия кончика корня. Органогенез из новообразованных адвентивных зачатков из них в стеблевых черенках идет с образованием корней благодаря активации периклинальных делений в камбии или в перицикле, выполняющих функции латентных меристем. Индукция деления клеток связана с действием ИУК, которая, перемещаясь базипетально,

накапливается в нижней части черенка.

Для процессов эмбриогенеза и регенерации наиболее важны последовательная индукция определенных генетических программ и морфо-физиологическая ориентация в пространстве. Запуск генетических программ осуществляется специфическими химическими и физико-химическими факторами, а ориентация в пространстве создается полярностью, в основе которой лежат прежде всего мембранные процессы. Клетки получают сигналы из внешней и внутренней среды, корректируются их функциональная активность, считка генетической информации и векторы поляризации. Такая корректировка получила название «эффекта положения». Регенерация возможна на разных уровнях организации живой материи.

Л-11 Особенности роста растений в фитоценозе

Основные вопросы

Влияние внутренних и внешних факторов на рост и развитие растений

На рост растения оказывают влияние многие факторы внешней среды, прежде всего - физические: свет, сила тяжести, газовый состав, магнитное поле, влажность, минеральные и органические вещества и механические воздействия. Кроме того, растение испытывает влияние продуктов жизнедеятельности других растений, а также физиологически активных веществ микроорганизмов. Внешние факторы могут вызывать в организме прямые и индуктивные эффекты.

При прямых эффектах, если только речь не идет об обратимых или необратимых повреждениях, действие внешних факторов чаще всего связано с притоком энергии или ее отнятием. Эффект продолжается до тех пор, пока действует внешний фактор. Примеры - свет как источник энергии для фотосинтеза, зависимость роста от температуры.

При индуктивных эффектах внешний фактор поставляет или отнимает лишь столько энергии, сколько нужно, чтобы привести в действие пусковой механизм, который включает процесс, происходящий за счет внутренних источников энергии. Эффект нередко продолжается и тогда, когда внешний фактор больше не действует. Примеры - стимуляция прорастания семян или образование цветков под действием низких температур или света.

Свет оказывает глубокое и многообразное воздействие на внешнее строение растений. Свет влияет на дыхание и прорастание семян, образование корневищ и клубней, формирование цветков и сексуализацию, листопад и переход почек в состояние покоя. В отсутствие света происходит упрощение анатомической структуры стебля. Слабо развиваются ткани центрального цилиндра, механические ткани. Свет в явлениях фотоморфогенеза выполняет сигнальную роль, включает цепь событий, завершающуюся морфогенетическим ответом. У растений обнаружены системы, рецептирующие фотоморфогенетически активный свет (фитохром и пигменты, поглощающие синий свет).

Эндогенная регуляция осуществляется на внутриклеточном, межклеточном и организменном уровнях. На уровне клетки действуют: метаболическая (или регуляция активности ферментов), т. е. воздействие неспецифическими физико-химическими факторами, изостерическая регуляция активности ферментов на уровне их катализитических центров, аллостерическая регуляция, активация зимогена, связывание и освобождение ферментов; генная регуляция; регуляция на уровне репликации, транскрипции, процессинга, трансляции; мембранные регуляции. Выделяют такие межклеточные системы регуляции: трофическую, гормональную, электрофизиологическую. Организменный уровень организации характеризуется доминирующими центрами, полярностью, канализированными связями, осцилляциями, регуляторными контурами. Эти системы управления мы разберем подробно в курсах «Регуляция процессов жизнедеятельности растений» и «Теория гормональной регуляции».

Физиологические основы действия фитогормонов

Гормоны - это главные факторы регуляции и управления у растений. Фитогормоны - это ~~биорегуляторы~~ молекулярные органические вещества с высокой физиологической активностью. Они присутствуют в тканях в очень низких концентрациях; с их помощью клетки, ткани и органы взаимодействуют друг с другом. Обычно фитогормоны вырабатываются в одних тканях, а действуют - в других, однако в ряде случаев они функционируют в тех же клетках, в которых образуются. Характерной особенностью их является то, что они включают целые физиологические и морфогенетические программы (корнеобразование, созревание плодов и др.).

Фитогормоны - это производные аминокислот (ИУК), нуклеотидов (цитокинины), полиизопренов (гиббереллины, АБК), непредельных углеводородов (этилен).

Среди гормонов растений имеются лишь органические соединения с молекулярной массой от 28 (этилен) до 346 (гиббереллины). В растениях не найдены гормоны белковой или полипептидной природы.

В «свободном» физиологически активном состоянии фитогормоны присутствуют в крайне низких концентрациях, порядка 10^{-10} М, и в этих же концентрациях проявляют свое физиологическое действие.

Фитогормоны, как правило, вырабатываются в одних клетках и тканях, а действуют в других, что и позволяет использовать их для взаимодействия различных частей растения.

Растительные гормоны включают и регулируют физиологические или морфогенетические программы. Способ их действия заключается, вероятно,

в том, что в качестве эффекторов они взаимодействуют с регуляторными субъединицами в мембранах и с регуляторными белками генного аппарата.

Выделяют пять групп фитогормонов: ауксины; гиббереллины; цитокинины; абсцизины; этилен.

Каждый из фитогормонов - это основа системы, которая включает: ферменты, кофакторы и ингибиторы его синтеза; ферменты связывания (конъюгирования) и освобождения гормона из связанного состояния; способы мембранных и дальнего транспорта; механизмы действия, которые определяются наличием рецепторов и их локализацией; ферменты, кофакторы и ингибиторы разрушения фитогормона. В свою очередь, системы отдельных фитогормонов связаны в единую гормональную систему. Эта связь осуществляется на уровне как метаболизма фитогормонов, так и механизма их действия.

При повышении концентрации ИУК в клетках возрастает синтез этилена; это же явление отмечается и при действии гиббереллинов и цитокининов, хотя и в меньшей степени. Этот эффект связан с индуцирующим действием фитогормонов на синтез фермента, участвующего в превращении предшественника этилена в этилен. Рост содержания тормозит полярный транспорт ауксина, увеличивает его конъюгирование, что приводит к снижению содержания свободного ауксина. Высокое содержание этилена способствует повышению концентрации АБК, что тормозит синтез этилена. Под действием цитокининов возрастает содержание ИУК и гиббереллинов, которые также способствуют увеличению ИУК.

По спектру физиологического действия все фитогормоны поливалентны, т. е. оказывают влияние на синтез нуклеиновых кислот, белков, активность ферментов, интенсивность дыхания, деление, рост, дифференцировку клеток и др. Специфичность их действия определяется их соотношением. Например, повышение ИУК относительно цитокинина включает программу корнеобразования, а повышение цитокинина - программу побегообразования.

Фитохромная и криптохромная системы. Электрофизиологические процессы роста
Фитохромная система. Для оценки качества и количества квадратов в красной

области у растений есть фоторецептор - фитохром, состоящий из фитохромобилина (пигмент аналогичен фикобилину водорослей) в комплексе с белком. Фитохром может находиться в двух **Контрольные вопросы** формах: красной (Φ_{660}) и дальней красной (Φ_{730}). При облучении красным светом (660 нм) фитохром Φ_{660} трансформируется в форму Φ_{730} . Трансформация приводит к некоторому изменению конформации хромофора (фитохромобилина) и незначительной конформации белка.

У водорослей и папоротников отмечена переориентация хромофора относительно белка. Доказано, что фотопревращение $\Phi_{660} \rightarrow \Phi_{730}$ приводит к локализованному изменению поверхности белка в домене, который обеспечивает присоединение его к мембране (увеличивается гидрофобность, доступность для действия протеаз и т.д.). Переходы $\Phi_{660} \rightarrow \Phi_{730}$ и $\Phi_{730} \rightarrow \Phi_{660}$ осуществляются через ряд интермедиатов.

При определенных условиях освещенности существует динамическое равновесие между основными формами фитохрома, т. к. спектры Φ_{660} и Φ_{730} имеют перекрывающиеся участки в красной - дальней красной и синей областях. На протяжении большей части дня соотношение энергии красных и дальних красных лучей составляет 3 : 1, что благоприятствует превращению Φ_{660} в Φ_{730} . В темноте преобладает Φ_{660} , т.к. именно в этой форме синтезируется фитохром. Φ_{660} более устойчив, а активная форма Φ_{730} нестабильна в тканях.

Фитохром обнаружен у всех зеленых растений, даже у сине-зеленых водорослей и некоторых гетеротрофных организмов; он найден во всех органах растения. К реакциям, регулируемым фитохромной системой, относятся такие: ингибирование роста стебля, открытие крючка гипокотиля, развертывание семядолей, дифференциация эпидермиса и устьиц, образование элементов ксилемы, ориентация хлоропластов, фотопериодическая реакция растения и др.

На основании сигналов фитохромной системы растение изменяет стратегию роста: готовится к фотосинтезу или все силы расходует на рост, его семена прорастают или «ждут» более благоприятного освещения и т. д. Все процессы, контролируемые фитохромной системой, делятся на два типа: усиливающиеся (синтез антоциана, прорастание семян и др.) и тормозящиеся (рост стебля, удлинение гипокотиля) под влиянием красного света.

Воздействие Φ_{730} может проявляться быстро, что связано, вероятно, с изменением свойств мембран (накопление Φ_{730} в мембране влияет на их проницаемость, изменяет электрический потенциал, вызывает определенный биологический эффект), и медленно (фитохром вызывает либо активацию, либо дерепрессию части генома). Фитохромы влияют на образование ряда ферментов и активность фитогормонов. Полагают, что действие фитохрома на геном опосредовано фитогормонами.

Многие процессы фотоморфогенеза, контролируемые фитохромом, связаны либо с кратковременным освещением малой интенсивности, т. е. с низкоэнергетическими реакциями (подавление удлинения междуузлий, ускорение роста листа, выпрямление крючка гипокотиля и др.), либо с более длительным и более интенсивным облучением, т. е. высокоэнергетическими реакциями (нормальный рост побегов).

Криптохромная система. Многие процессы растений контролируются ближним ультрафиолетовым и синим светом (320-500 нм). Синий свет важен для фототропизма, движений устьиц, синтеза каротиноидов, антоцианов, а также явлений фотоморфогенеза. Пигмент, рецептирующий синий - ближний ультрафиолетовый свет, назвали криптохромом. Этот рецептор присутствует у всех растений. Он локализован в ядрах. Физиологический спектр действия криптохрома совпадает как со спектром флавинов (криптохром I), так и со спектром птеринов (криптохром II). Криптохром I дает «приблизительный» сигнал, а криптохром II - более точный.

Существует три гипотезы работы криптохрома I:

происходит самовосстановление молекулы криптохрома с изменением ее конформации, что активирует вторичные мессенджеры;

Контрольные вопросы: промежуточный редокс-партнер;

партнеру передается не электрон, а возбуждение квантом синего света, и этот квант приводит в действие еще одну хромофорную молекулу.

Если эффективное взаимодействие не состоялось, возбужденное флавиновое ядро теряет энергию (флюоресцирует).

Благодаря спектральным свойствам птерина, криптохромы поглощают кванты как из синей области, так и из ближней ультрафиолетовой, поэтому криптохромы рассматривают как возможные УФ - фоторецепторы.

Криптохромная и фитохромная системы дополняют друг друга. В настоящее время предложены три гипотезы действия света:

через генетический аппарат;

через регуляцию уровня или активности фитогормонов;

путем влияния на функциональную активность мембран.

Для осуществления координации между отдельными клетками, тканями в организме вырабатываются фитогормоны.

У растений для регуляции физиологических и морфогенетических процессов используются электрофизиологические явления. Эта регуляция осуществляется на базе электротонических потенциалов и потенциала действия. Клетки растения взаимосвязаны мембранный фазой через плазмодесмы. Например, при изменении мембранных потенциала в каких-либо клетках между этими и соседними клетками возникает разность потенциалов.

Электротонические поля и токи

Между всеми частями растения существует разность потенциалов, которая изменяется сравнительно медленно. Апикальная почка двудольных растений заряжена положительно по отношению к основанию стебля.

Проростки кончика корня и зона корневых волосков заряжены положительно по отношению к зоне растяжения. Между этими участками возникают токи порядка 0,1 - 0,4 мА, которые медленно изменяются, в том числе и в ритме колебаний. Эти электротонические разности потенциалов имеют функциональное значение. Следствием всякого изменения микроструктуры электрических полей в тканях может быть перераспределение подвижных белковых компонентов в мембранах, в результате чего возникает новое физиологическое состояние клеток.

Потенциал действия (ПД)

При кратковременном воздействии стрессовых факторов в клетке развивается ПД, который может быть местным или распространяющимся. Он обусловлен ионными потоками через плазмалемму. Из цитоплазмы выходят ионы Cl^- , а входят в нее катионы Ca^{+2} и, возможно, H^+ . Это обусловлено не только электрическим потенциалом, но и тем, что в клеточных стенках концентрации Ca^{+2} и H^+ на 2 - 3 порядка выше, чем в цитоплазме. Вход катионов и выход Cl^- приводит к деполяризации мембранных потенциала (МП), что способствует открытию потенциалзависимых калиевых каналов, и K^+ , выходя по электрохимическому градиенту из клетки, гиперполяризует мембранный потенциал. Затем ионные насосы возвращают ионное равновесие в исходное состояние.

Таким образом, возникает типичный ПД - электроотрицательный импульс. Амплитуда этого импульса достигает 100-160 мВ, а длительность - от 0,5 до нескольких десятков секунд. У высших растений распространение ПД происходит по проводящим пучкам стеблей. Скорость распространения у большинства растений - 0,08-0,5 см/с.

При действии на листья различных факторов электрический сигнал передается корням, а через несколько секунд изменяется их функциональная активность, например

скорость поглощения катионов. У проростков ПД возникает даже при сравнительно незначительных изменениях температуры (около 3-5 °С). Это указывает на существование у растений **функциональной** связей, однако объем информации, передаваемой таким образом, очень мал.

Все системы межклеточной регуляции растений (трофическая, гормональная, электрофизиологическая) тесно взаимосвязаны. Например, ИУК, действуя на функциональную активность мембран, оказывают влияние на электрофизиологические градиенты между различными частями растения, которые, в свою очередь, участвуют в процессе транспорта как фитогормонов, так и трофических факторов.

Каждая из этих систем действует на клетки через системы внутриклеточной регуляции, т. е. изменяя функциональную активность ферментов и мембран, влияя на интенсивность и направленность синтеза нуклеиновых кислот и белков. Создается единая иерархическая система регуляции, определяющая взаимодействие всех частей растения.

Ростовые движения растений

Процессы раздражимости и возбудимости

Живые организмы способны реагировать на изменения в среде, но не на все. Эти изменения должны обладать определенной степенью интенсивности - порогом действия. Изменения окружающей среды, оцениваемые живой системой, называются раздражителями, которые могут быть как внутренними, так и внешними. Однако во всех случаях они будут внешними по отношению к конкретной клетке. В качестве раздражителей могут выступать свет, температура, влажность, различные химические вещества, электромагнитные поля и др.

Все раздражители можно разделить на три группы: физические (температура, свет и др.); физико-химические (изменения осмотического давления, реакции среды, электролитного состава, коллоидного состояния); химические (гормоны, яды и др.); биологические (микроорганизмы, насекомые и др.).

По физиологическому значению раздражители делят на адекватные, т. е. действующие на данную биологическую структуру в естественных условиях, к восприятию которых она специально приспособлена и чувствительность к которым у нее очень высока, и неадекватные, для восприятия которых клетка, орган специально не приспособлены, а поэтому реакции на такие воздействия могут привести к повреждениям.

Возбуждение - процесс преобразования внешней энергии, происходящий в клетке под влиянием внешних раздражителей. Способность к возбуждению называется возбудимостью. Возбудимость - способность клеток переходить в функционально активное состояние в ответ на действие раздражителя. Она является неотъемлемым компонентом раздражимости, присуща всем живым клеткам. Явление раздражимости, или возбудимости, с одной стороны, лежит в основе взаимодействия организма как целой системы с элементами его внутренней среды, а с другой - определяет реакцию организма на внешние факторы. Поэтому свойство раздражимости обеспечивает и целостность растительного организма, и его адекватную реакцию на изменение факторов внешней среды.

Свойством возбудимости обладает цитоплазма любых клеток. Клетки, их группы или отдельные белковые структуры, обладающие повышенной чувствительностью к определенным видам раздражителей, обусловленной особенностью их строения, называются рецепторами. У растений обнаружены фото-, хемо- и механорецепторы.

Функциональная активность фоторецепторов обеспечивает фототаксисы, фототропизмы, фотонастии и восприятие фотопериодических сигналов. Хеморецепция позволяет растительным организмам реагировать на аттрактантанты, трофические факторы внешней среды (хемотаксисы, хемотропизмы) и фитогормоны. Механорецепция лежит в основе таких явлений, как геотропизмы, бигмоторизмы,

сейсмонастии.

В целом, взаимодействие стимула внешней среды с рецепторной клеткой происходит на плазматической мембране. **Контрольные вопросы:** В плазматической мембране рецепторных клеток локализованы особые белковые молекулы, которые первыми взаимодействуют с раздражителем.

Воздействие раздражителя на белковую молекулу изменяет ее связи с соседними липидами и белками и приводит к изменению проницаемости всей плазматической мембраны, ионного равновесия, деполяризации и появлению рецепторного потенциала.

Первоначально происходит специфическое взаимодействие раздражителя с белком, т. е. кодирование. Кодирование стимула является пусковым (триггерным) механизмом общего возбуждения рецепторной клетки. Затем происходят изменения электропотенциалов и другие процессы. Следовательно, реакция организма на изменения в окружающей среде состоит из трех этапов: возникновение возбуждения в месте действия раздражителя; передача возбуждения к месту реализации ответной реакции; сама ответная реакция. У простейших и растений может отсутствовать второй или третий элемент ответной реакции организма на действие раздражителя.

В ответ на любое раздражение специализированная клетка, ткань, орган реагируют неспецифически, т. е. реакциями, являющимися основными функциями этих образований. Признаки возбужденного состояния клеток: отрицательный электрический заряд, всегда появляющийся на поверхности возбужденного участка по отношению к невозбужденному; освобождение и выход из клеток некоторых ионов, например калия; резкая активация обмена веществ, сопровождающаяся повышением температуры. Механизм возникновения и распространения возбуждения в растениях связан с изменениями ионной проницаемости и колебаниями мембранных потенциалов клеток, по которым перемещается импульс ПД.

Типы движения растений и их механизмы

Изменения расположения органов растения в пространстве, обусловленные разными внешними факторами, называют движениями растений. Двигательная активность необходима для питания, защиты, размножения. У большинства растений движения не удается проанализировать, т. к. они происходят очень медленно. Некоторые растения обладают быстрыми двигательными реакциями (мимоза стыдливая, мухоловка и др.). В некоторых случаях движение растений достигается за счет верхушечного роста (пыльцевые трубы и др.). Для подавляющего большинства растений характерный способ перемещения - рост растяжением.

В основе движения растений лежат осмотические процессы. Способы движения растений: внутриклеточный (движение цитоплазмы и органоидов); локомоторный с помощью жгутиков (таксисы); верхушечный (корневые волоски, пыльцевые трубы, протонема мха); ростовой (удлинение осевых органов, круговые нутации, тропизмы, ростовые настии); тургорной (движения устьиц, медленные тургорные движения - настии, быстрые тургорные движения - сейсмонастии); механический (растягивание плодов и т. д.).

Внутриклеточные движения. Есть несколько типов движения цитоплазмы: колебательное, циркулярное, ротационное, фонтанирующее, идущее по типу прилива, челночное. В растительной клетке цитоплазма находится в постоянном движении. Колебательное свойственно клеткам водоросли Spirogyra, водного гриба Achlya. При этом движении нет упорядоченного перемещения клеточных компонентов (одни частицы движутся к центру, другие - к периферии, третьи - находятся в покое).

Циркуляционное характерно клеткам, у которых есть протоплазматические тяжи, пересекающие вакуоль (волоски огурцов, тычиночные нити традесканции и т. д.). Потоки цитоплазмы, проходящие через вакуоль, все время меняют свой вид.

Ротационное движение наблюдается в клетках с большой центральной вакуолью; при этом цитоплазма находится на периферии клетки и движется подобно приводному

ремню (водные растения).

Фонтанирующее движение свойственно клеткам, обладающим верхушечным ростом (корневые **Контрольные вопросы**: трубы). В толстом центральном тяже протоплазма движется к кончику клетки, а постоянный слой - в обратном направлении.

При движении по типу прилива (гифы грибов) движение происходит рывками по направлению к растущей верхушке гифы.

Челночное движение наблюдается, например, у миксомицетов. В одном из направлений постепенно возрастает скорость тока цитоплазмы, после достижения максимальной скорости наступает резкая остановка и начинается движение в противоположном направлении.

Полагают, что движущую силу цитоплазмы могут обуславливать взаимодействие актиновых филаментов с миозином эндоплазма, который обладает АТФ-азной активностью, а также взаимодействия актиновых микрофиламентов с микротрубочками эктоплазмы, связи между ними возникают на границе экто- и эндоплазмы. Движение цитоплазмы идет с затратой АТФ; необходимы ионы кальция. Изменение уровня кальция в цитоплазме - важный регулятор структуры сократительных белков. Однако высокие концентрации кальция приводят к желатинизации цитоплазмы и прекращению движения.

Движение органоидов. Органоиды растения не только пассивно переносятся с током цитоплазмы, но и обладают автономными движениями. Например, хлоропласти через миозин связаны с пучками цитоплазматических микрофиламентов, которые взаимодействуют с филаментами актина. Движение с участием АТФ возникает при взаимодействии актина и миозина благодаря изменению угла наклона молекул миозина по отношению к актину.

Локомоторный способ движения. В основе этого движения лежит функционирование систем сократительных белков, обеспечивающих превращение энергии АТФ в механическую энергию. Локомоторные движения у растений присущи клеткам, перемещающимся с помощью жгутиков.

Верхушечный рост. Это высокополяризованный тип роста, в клетках наблюдается строгая пространственная локализация интенсивности синтеза стенки вдоль ее продольной оси. Рост происходит в ходе активного локального секреторного процесса. Для верхушечного роста характерно отсутствие в цитоплазме куполообразного кончика микротрубочек, которые появляются в цилиндрической части клетки. Для процесса секреции необходим кальций. При данном типе роста важен транспорт секреторных везикул к кончику клетки. Везикулы доставляют материал для синтеза стенки, синтазы и литические ферменты.

Ростовые движения. Удлинение осевых органов - движение за счет роста растяжением. Данный тип включает образование центральной вакуоли, накопление в ней осмотически активных веществ, поглощение воды, размягчение и растяжение клеточных стенок. Растяжение регулируется гормональной системой, в которой основную роль играет ИУК. В комплексе с рецепторами активирует синтез белков и РНК. Данная активация необходима для поддержки начавшегося роста растяжением.

Усиление дыхания обеспечивает энергетические затраты на все эти процессы.

Круговые нутации. Нутации - круговые или колебательные движения органов растения, в ряде случаев имеющие эндогенный (автономный) характер. Растущий побег качается, его верхушка колеблется относительно продольной оси. Аналогичные колебания наблюдаются при росте корня. Это круговые нутации. Они осуществляются за счет идущих по кругу местных ускорений роста клеток в зоне растяжения. В основе ростовых нутаций стеблей и корней лежат геотропическая корректировка в гравитационном поле и автотропизм. Круговые нутации хорошо выражены у стеблей вьющихся растений. Движение вьющихся растений зависит от присутствия гиббереллинов и флавоноидов. Усики лазающих растений тоже совершают круговые

нутации, однако они носят эндогенный характер.

Тропизмы - изменения положения органов, вызываемые односторонне действующим раздражителем. **Контрольные вопросы:** связаны с более быстрым ростом растяжением клеток на одной стороне стебля, корня, листа, черешка. Согласно теории Холодного-Вента, под влиянием односторонне действующих раздражителей в органах индуцируется поперечная электрополяризация тканей, в результате чего транспорт ИУК, а следовательно, и рост, становятся асимметричными.

В механизме тропизмов принимают участие и другие фитогормоны (например, абсцизовая кислота в корнях). В зависимости от природы раздражителя различают фото-, гео-, хемо-, тигмо-, электро-, гидро-, аэро-, термо-, авто- и травмоторизмы.

При положительных тропизмах движение направлено в сторону раздраживающего фактора, при отрицательных - от него. Органы, располагающиеся вдоль градиента раздражителя, называются ортотропными, под прямым углом - диатропными, под любым другим углом - плахиотропными.

С помощью тропизмов осуществляется такая ориентация органов в пространстве, которая обеспечивает наиболее эффективное использование факторов питания, служит для защиты от вредных воздействий. В природных условиях на растение одновременно действуют несколько факторов. Реакция организма возникает в ответ на более сильное раздражение. Следовательно, возможно доминирование одного из раздражителей. Растение способно не только воспринимать раздражения и проводить возбуждение к эффектору, но и оценивать значение этого раздражителя.

Ростовые настии. Настии - это обратимое движение органов растения, вызываемое раздражителем, не имеющим строгого направления, а действующим равномерно на все растение. Название настий, как и тропизмов, зависит от природы раздражителей. К настическим движениям способны лишь двусторонне-симметричные органы (листья, лепестки). Настические движения обеспечивают защиту органов от повреждающих воздействий, захват предметов. Направленность настий определяется структурой органа, совершающего движение. Предполагают, что данный тип движения происходит благодаря неравномерному росту разных сторон лепестков: если быстрее растет верхняя сторона, происходит эпинастия, если нижняя - гипонастия. При открывании и закрывании цветков идет рост клеток соответственно верхней или нижней стороны. Если процессы повторяются много раз, лепестки удлиняются. Неравномерный рост, возможно, обусловлен фитогормонами.

Тургорные движения. Движение устьиц - пример обратимых медленных тургорных настических движений. Эти движения обусловлены особенностью строения клеточных стенок замыкающих клеток. Утолщенной и нерастяжимой является та часть оболочки, которая обращена к устьичной щели. Остальная часть замыкающей клетки покрыта тонкой клеточной стенкой, способной эластически (обратимо) растягиваться. Такое строение приводит к тому, что при возрастании тургорного давления и увеличении объема вакуолей замыкающих клеток устьичные щели открываются.

Степень открытия зависит от освещенности, уровня углекислоты в тканях и их оводненности. Открывание устьиц зависит и от выхода ионов водорода из замыкающих клеток.

Этот процесс связан с активацией H^+ - помпы плазмалеммы в ответ на действие раздражителей. Увеличение в вакуолях объема замыкающих клеток осмотически активных веществ (ионов калия, хлора, малата) приводит к возрастанию тургорного давления, обратимому растяжению эластичных участков клеточных стенок и открыванию устьиц.

В регуляции участвуют цитокинины, способные усиливать поглощение K^+ замыкающими клетками устьиц и активировать H^+ , K^+ -АТФ - азу плазмалеммы. При закрывании устьиц содержание ионов калия, хлора, малата уменьшается. Этот процесс регулируется CO_2 и АБК.

Следовательно, работа устьичного аппарата связана с транспортом ионов через плазмалемму и тонопласт замыкающих клеток и изменениями в них тургорного давления.

Контрольные вопросы:

Быстрые тургорные движения. Сейсмонастии - движения, индуцируемые сотрясением. Их механизм обеспечивается способностью клеток листовых подушечек, расположенных в сочленениях черешков с листовыми пластинками, быстро терять тургор под действием механических раздражителей, что приводит к опусканию черешков и сворачиванию листьев. Проведение сигнала по растению осуществляется электрически. В ответ на раздражение генерируется ПД, который распространяется по черешку со скоростью 0,5-4,0 см/с, достигает клеток листовых подушечек и инициирует быструю потерю тургора в нижних клетках сочленений черешков и листьев.

Механические движения. Есть три типа таких движений: обратимые, возникающие при набухании и обезвоживании клеточных стенок, обладающих различной структурой, при изменении влажности воздуха; необратимые, связанные с реализацией высокого осмотического давления, возникающего внутри ткани; когезионные движения, происходящие из-за одностороннего напряжения тканей, возникающего при высыхании органов вследствие натяжения воды в неравномерно утолщенных клеточных стенках.

Л-12 Физиология формирования генеративных органов

Основные вопросы

Основные этапы онтогенеза

Этапы онтогенеза (эмбриональный, ювенильный, репродуктивный, зрелости, старения) были рассмотрены в предыдущей лекции. В этой лекции ознакомимся с особенностями развития растений.

Морфологические, физиологические и метаболические особенности этапов онтогенеза

Развитие - это изменения в новообразовании элементов структуры организма, обусловленные онтогенезом, или жизненным циклом (В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева). Различают автономное и индуцированное развитие. Автономное развитие осуществляется под влиянием только внутренних возрастных и других изменений, возникающих в самом организме. Индуцированное развитие также требует индукции со стороны внешних факторов. Индукция развития - влияние внешних факторов или одной части растения на другую, приводящее к детерминации (определению) развития организма, органа или ткани. Индукторы - это факторы внешней среды, гормоны, метаболиты. В онтогенезе, как уже отмечалось, выделяют несколько этапов: эмбриональный, ювенильный, репродуктивный, старость.

Эмбриональный охватывает развитие зародыша (от зиготы до созревания семян включительно). Все процессы эмбриогенеза у покрытосеменных осуществляется в семяпочке (семязачатке), которая(ый) формируется на плодолистике. Из зиготы образуется зародыш, из семяпочки - семя, из завязи - плод. Формирующийся зародыш питается гетеротрофно. Существенную роль в развитии зародыша играет формирующийся эндосперм. Из него в зародыш поступает специфический набор питательных веществ: аминокислоты и другие азотистые вещества, углеводы, инозит, витамины и др.

Приток питательных веществ в развивающиеся семязачатки (семяпочки), а затем в созревающие семена и формирующиеся плоды определяется тем, что эти участки становятся доминирующими центрами. В них вырабатывается большое количество фитогормонов, прежде всего - ауксина, в результате чего аттрагирующее действие этих тканей возрастает. Накопление питательных веществ происходит в семенах. Запасные вещества могут откладываться и в семядолях, в этом случае эндосперм в зрелых семенах отсутствует (бобовые, пастушья сумка и др.).

У некоторых видов (перец, свекла и др.) запасающая ткань формируется из нуцеллуса и в этом случае называется периспермом. Следовательно, питающие ткани как вне зародыша (**Контрольные вопросы**), так и в самом зародыше (семядоли) синтезируют и запасают большое количество питательных высокополимерных веществ (белки, крахмал, запасные жиры). Они более компактны и инертны, чем мономеры, не создают значительного осмотического эффекта, что способствует уменьшению содержания воды в семенах.

На ювенильном этапе растения не способны к половому размножению. Этап можно разделить на две фазы: развитие проростка и накопление вегетативной массы. В течение первой фазы растение закрепляется на определенном экологическом участке среды обитания; во второй фазе создается вегетативная масса, достаточная для обеспечения трофическими факторами органов размножения и формирующихся семян и плодов, которые питаются ге-теротрофно. Эта масса понадобится на следующем этапе развития. Растениям свойственны интенсивный метаболизм, быстрый рост и развитие вегетативных органов. Ткани и органы имеют относительно высокое содержание фитогормонов. Продолжительность этого периода у различных растений неодинакова: от нескольких недель до десятков лет.

Особенности периода: проростки по многим параметрам не похожи на взрослые растения (форма листьев; апикальная меристема побегов развита слабее, характер роста побегов); отсутствие цветения, в чем проявляется роль компетенции; ювенильное растение не обладает компетенцией к факторам, вызывающим закладку органов полового размножения, что, возможно, связано с отсутствием в органах-мишениях белков-рецепторов гормонов, участвующих в индукции генеративного развития; сравнительно высокая способность к корнеобразованию; длительность периода сильно отличается у разных таксонов и жизненных форм.

Факторы, влияющие на ювенильность, у разных растений могут действовать по-разному. Главные из этих факторов: малая площадь листовой поверхности, что, вероятно, связано с недостаточностью углеводного питания; неблагоприятное соотношение молодых и старых листьев (удаление молодых листьев ускоряет образование цветка, старых - задерживает цветение; возможно, в молодых листьях образуются ингибиторы цветения, идет конкуренция за ассимиляты); нечувствительность первых листьев к восприятию фотопериодического воздействия; тормозящее влияние корней на переход к зацветанию; нечувствительность меристем апексов побега к стимулам цветения.

Таким образом, причиной ювенильности одних растений может быть отсутствие компетентности молодых листьев к фотопериодическим или температурным воздействиям, других - невосприимчивость апикальных меристем к стимулам цветения. Ювенильным побегам характерно высокое содержание ауксина, образующегося в молодых листьях, и цитокининов, поступающих из корней. В ювенильных листьях могут присутствовать ингибиторы цветения. Ювенильное состояние зависит от определенных генов и поддерживается недостатком углеводного питания.

В репродуктивный период (этап зрелости и размножения) идет размножение, т. е. физиологический процесс воспроизведения себеподобных организмов, обеспечивающий непрерывность существования вида и расселение его представителей в окружающем пространстве. Наиболее известны исследования этого процесса В. В. Полевым, Т. С. Саламатовой. У растений возникает компетенция (восприимчивость) к фактором, индуцирующим зацветание. Переход от вегетативного роста и развития к генеративному развитию связан с процессом инициации цветения.

Инициация цветения - образование апикальными меристемами цветочных зачатков и все предшествующие события, вызывающие их закладку. Она включает две фазы: индукцию цветения и эвокацию. Затем формируется цветок, идет опыление, оплодотворение, развиваются семена и плоды.

Индукция цветения - восприятие растением внешних и внутренних факторов, создающих условия для закладки цветочных зачатков. Эта фаза осуществляется под действием экологических факторов, например температуры (яровизация), чередования дня и ночи (фотопериодизм), либо эндогенных факторов, обусловленных возрастом растения (возрастная, или автономная индукция).

Контрольные вопросы:

Яровизация - процесс, идущий в озимых растениях под действием в течение определенного времени низких положительных температур. Он способствует ускорению генеративного развития. Рецептором, воспринимающим действие пониженных температур, является точка роста. Под влиянием пониженных температур в клетках меристемы происходят следующие изменения: увеличивается количество РНК, активируются гидролитические ферменты, изоэлектрическая точка белков сдвигается в кислую сторону, усиливаются окислительные процессы. Считают, что в данном случае образуется специальное вещество верналин, который способен перемещаться по растению и вызывать заложение цветков. Некоторые ученые считают, что действие низких температур вызывает синтез гиббереллинов или дерепрессируют гены. Яровизация имеет адаптивное значение.

Фотопериодизм - реакция растений на суточный ритм освещения, т.е. на соотношение продолжительности дня и ночи (фотопериоды), выражаясь в изменении процессов роста и развития. Понятия «фотопериод» и «фотопериодизм» были введены в 1920 г. У. Гарнером и Г. Аллардом. Продолжительность дня действует на зацветание различных растений неодинаково. В связи с этим различают короткодневные, длиннодневные, нейтральные, длинно-короткодневные, коротко-длиннодневные растения. Различают также качественную фотопериодическую реакцию у растений с облигатным фотопериодическим контролем и количественную фотопериодическую реакцию растений, которые быстрее зацветают под воздействием короткого или длинного дня, но в конечном итоге переходят к цветению и при неблагоприятной продолжительности дня. Некоторые растения способны «чувствовать» разницу в длине дня, измеряемую минутами. Рецептором в фотопериодической реакции является листовая пластинка. Она воспринимает длину дня и ночи, а изменения, в результате которых начинается заложение цветков, происходят в меристеме. На фотопериодическое воздействие отвечает ближайшая к листу точка роста.

Продолжительность дня и ночи листья воспринимают с помощью фитохрома. Впервые это было отмечено американскими исследователями Х. Бортвиком, М. Паркером и С. Хендриксом. Они обнаружили, что вспышка красного света в конце темнового периода у короткодневных растений индуцирует переход к зацветанию. Длинный красный свет, данный после красного, устраняет действие последнего. В явлениях фотопериодизма важная роль принадлежит фотосинтезу.

При исключении CO_2 из воздуха фотопериодическая реакция не происходит. Для осуществления фотопериодической реакции короткодневным и длиннодневным растениям требуется неодинаковое количество органического вещества (у длиннодневных эта потребность выше). Однако не интенсивность фотосинтеза является регулятором фотопериодического процесса, а фотопериод, который влияет на рост, развитие и потребности растения в ас- симилятах.

Важна роль дыхания в этом процессе. Анаэробиоз приводит к специальному изменению фотопериодической реакции цветения. Важное влияние оказывают условия азотного и углеводного питания растений.

Фотопериодическое воздействие существенно влияет на динамику и накопление как углеводов, так и азотсодержащих соединений. При большой продолжительности дня увеличивается содержание углеводов как у длиннодневных (ДДР), так и у короткодневных (КДР) растений. В условиях короткого дня усиливается накопление белков, свободных аминокислот и органических кислот. КДР и ДДР различаются

реакцией цветения на внесение азотных удобрений: ДДР, в отличие от КДР, быстрее зацветают при некотором дефиците азота в среде.

Эвокация - зачаточная фаза инициации цветения, во время которой в апексе происходят процессы, приводящие к появлению цветочных зачатков. Если восприятие фотопериода можно назвать листовой фазой инициации цветения, то эвокация - это фаза стеблевого апекса. Ее сущность - переключение генетической программы развития вегетативных почек на генетическую программу, обеспечивающую закладку и формирование цветков.

Г. Клебс показал, что половое размножение всех групп растений зависит от условий питания. Он же высказал предположение о том, что цветению высших растений способствует высокое соотношение углеводов и азотистых соединений.

В 1937 г. М. Х. Чайлахян сформулировал гормональную теорию развития растений. Гипотетический стимул, вызывающий цветение, он назвал флоригеном. По данной теории, у нейтральных растений (НР) флориген образуется постоянно и не зависит от длины дня, у ДДР флориген образуется при длинном, у КДР - при коротком дне. В 1956 г. А. Ланг установил, что цветение ДДР ускоряется гиббереллином. В 1958 г. М. Х. Чайлахян выдвинул гипотезу о бикомпонентной природе флоригена, согласно которой стимул, вызывающий цветение, состоит из гиббереллинов и антезинов: гиббереллины обуславливают образование и рост цветочных стеблей, а антезины индуцируют заложение цветков. У НР и гиббереллин, и антезин синтезируются конститутивно, у ДДР антезин всегда время присутствует в растении, а уровень гиббереллина повышается при продолжительном дне, и происходит цветение; у КДР гиббереллина всегда достаточно для цветения, а антезин синтезируется только при коротком дне.

Природа антезина остается неизвестной. В 1985 г. Ж. Бернье, Ж.-М. Кине, Ю. Сакс выдвинули свою гипотезу индукции эвокации, согласно которой эвокация контролируется сложной системой, состоящей из нескольких факторов, каждый из которых запускает свою цепь процессов. Их взаимодействие приводит к закладке цветков. Факторы, регулирующие эвокацию, образуются в различных частях растения.

Старение - завершающий этап жизненного цикла клетки, органа, организма. Он связан со взаимосвязанными изменениями на молекулярном, клеточном, органном и организменном уровнях. Процесс старения развивается постепенно. На молекулярном уровне он в основном связан с изменением соотношения процессов синтеза биополимеров клетки и их распада (в пользу последнего). На клеточном уровне старение означает снижение фотосинтетической активности, вызванное спадом активности ферментов, кодируемых геном хлоропластов, и связано с развитием репрессии генома и белоксин-тезирующей системы хлоропластов после остановки роста листа.

Эти процессы находятся под контролем ядра. Также происходит активация гидролитических процессов, изменение гормонального баланса, уменьшение числа работающих рибосом, расщепление рРНК, уменьшение отношения РНК/белок, снижение интенсивности дыхания. Нарушается проницаемость в плазмалемме. На органном уровне идет конкуренция за свет, питание, регуляторы роста; старение характеризуется уменьшением скорости всех физиологических процессов, спадом жизнедеятельности корней, снижением скорости дальнего транспорта, ослаблением регуляции. Главная адаптивная функция старения органов - использование их компонентов. Старение целого растения базируется на старении составляющих его частей и их коррелятивной взаимозависимости.

М. Х. Чайлахян рассматривал старение как усиливающееся с возрастом ослабление жизнедеятельности организма, приводящее, в конечном итоге, к его естественному отмиранию. Старение выражается в прогрессирующем нарушении синтеза макромолекул и систем регуляции организма, накоплении74оксических и

инертных в химическом отношении продуктов, постепенном угасании отдельных физиологических функций (С. С. Медведев).

Контрольные вопросы: Старение вызывает изменения соотношения фитогормонов. Увеличивается количество АБК и этилена, уменьшается количество ауксинов. АБК ускоряет распад хлорофилла, нуклеиновых кислот, усиливает деление клеток при образовании отделительного слоя в листовых черешках, цвето- и плодоножках, повышает активность пектиназы и целлюлазы, деятельность которых обеспечивает опадение органа. Этилен задерживает транспорт ИУК и увеличивает приток АБК в орган. Недостаток цитокининов усиливает старение.

Согласно гипотезе Г. Молиша, старение монокарпических растений сразу после плодоношения вызывается оттоком большей части питательных веществ к развивающимся плодам, а потому растение умирает от истощения. Имеются факты, противоречащие данной теории. Их продемонстрировали В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева.

Согласно гипотезе В. О. Казаряна, отток ассимилятов в формирующиеся плоды вызывает торможение роста корней, что ухудшает снабжение побегов минеральными веществами, водой, цитокининами. Нарушается водный режим, поглощение солей, синтез белка, уменьшается количество поступающих цитокининов.

Это служит причиной старения растения.

В настоящее время известны еще две гипотезы: запрограммированной смерти клеток; старения как накопления случайных повреждений ядерного генома, белоксинтезирующей системы цитоплазмы и мембран («гипотеза катастрофы ошибок»).

Согласно первой гипотезе, старение запрограммировано в геноме, происходит в результате реализации генетической программы. Дифференцировка клеток приводит к выключению части аппарата трансляции, что индуцирует старение. Сторонники «гипотезы катастрофы ошибок» предполагают, что хроматин может повреждаться свободными радикалами; они же влияют и на проницаемость мембран. Это приводит к синтезу дефектных белков и токсичных продуктов, ускоряющих старение.

Состояние покоя у растений. Типы покоя и их значение
для жизнедеятельности растений

Процесс обезвоживания приводит семена в состояние покоя, которое представляет собой пример анабиоза, когда жизненные процессы настолько замедлены, что отсутствуют видимые проявления жизни. Покой семян - это способ приспособливаться к неблагоприятным условиям среды. Продолжительность покоя у семян разных видов различна (от нескольких недель до нескольких лет). По физиологическим механизмам различают два типа покоя: вынужденный и физиологический.

Вынужденный характерен для семян, прорастание которых задерживается низкой температурой, недостатком воды, кислорода. Такой покой неглубок, и при устранении физических причин, мешающих прорастанию, семена трогаются в рост. Из этого вида покоя семена можно вывести, используя скарификацию.

Физиологический покой определяется внутренними факторами, как правило, недоразвитым зародышем. Так как при всех благоприятных факторах внешней среды семена, находящиеся в состоянии физиологического покоя, не прорастают, то используют термины «глубокий физиологический покой», или «органический покой». Состояние покоя регулируется балансом фитогормонов; торможение роста зародыша может быть связано с большим содержанием абсцизовой кислоты (ИУК) и индолилуксусной кислоты (ИУК), а выход из состояния покоя - со снижением концентраций этих гормонов с одновременным увеличением активности гиббереллинов и цитокининов.

Семена некоторых растений способны прорастать лишь на ~~ст~~⁷⁵ или после

кратковременного освещения красным светом: красный свет воспринимается в клетках зародыша фитохромом, который переходит в активное состояние; в тканях зародыша возрастает содержание **Концентрациями** гиббереллина, подготавливающего прорастание.

Такие семена называют светочувствительными (табак).

Из состояния физиологического покоя семена можно вывести, воздействуя на них низкими температурами. Этот прием называют стратификацией. В процессе ее у зародышей некоторых видов возрастает содержание гиббе-реллинов; в этих случаях стратификацию можно заменить обработкой семян гиббереллином.

Выведение семян из состояния глубокого физиологического покоя при действии специфических факторов среды (свет, температура) связано со сдвигом в соотношении фитогормонов: ингибиторов роста, цитокининов, гиббереллинов, ауксина. Необходимы снижение содержания ингибиторов роста и (или) повышение концентрации фитогормонов, стимулирующих рост. Для разных видов эти сдвиги в балансе фитогормонов не однозначны. Покой характерен любому органу растения и растению в целом.

Л-13 Превращение органических веществ в растениях

1. Запасные вещества вегетативных органов
2. Органические вещества вторичного происхождения
3. Превращение органических веществ в семенах

Основные вопросы

Запасные вещества вегетативных органов древесных растений

Отложение запасных органических веществ происходит не только в семенах и плодах, но и в других частях растений. У многолетних древесных растений органические соединения откладываются в корнях, стволе, ветвях, побегах, почках, а у хвойных с неопадающей хвоей даже в хвое.

В стволе и старых ветвях запасные вещества находятся в живых клетках древесной паренхимы и сердцевинных лучах лишь в более молодых – в периферических годичных кольцах заболони. Ядро и внутренние слои заболони для отложения запасных веществ используются мало. В молодых ветвях и побегах крахмал, липиды, белки и другие запасные вещества откладываются в древесине и сердцевине. Достаточно много запасных веществходим в клетках сердцевинных лучей и лубяной паренхимы коры ветвей, побегов, ствола и корней.

В течение всего лета пластические вещества, образующиеся в процессе фотосинтеза в листьях, передвигаются с нисходящим током вниз к камбию ствола и в корневые системы. Часть их в это время подается к цветкам, семенам и плодам, которые становятся главными аттракционами деревьев.

В умеренной полосе с серединой лета дерево начинает откладывать органические вещества в запас. У такой крахмалистой древесной породы, как дуб, появляется большое количество крахмала первоначально в растущих побегах, затем – в верхней части кроны и ствола. В августе крахмал появляется в последнем годичном слое древесины ствола, а также корней. Небольшая часть запасных веществ представлена сахарами. Зимой часть крахмала превращается в сахара и масла, другая часть остается в местах его образования. Липа, являющаяся маслянистой древесной породой, в середине лета откладывает большое количество жиров и немного крахмала и сахаров. В зимний период у липы весь запасной крахмал, отложенный в клетках древесной паренхимы и в сердцевинных лучах древесины, лубяной паренхиме и клетках сердцевинных лучей коры ветвей, ствола и корней, превращается в сахар. Накопление сахаров имеет очень важное приспособительное значение, так как защищает живые части дерева от повреждений морозами. У других древесных пород, в частности, у бересклета, крахмал переходит в сахар частично.

Весной, с началом сокодвижения, запасные белки, крахмал и жиры корней, ствола и ветвей подвергаются гидролизу, продукты которого под действием корневого давления поднимаются с восходящим током и используются на распускание почек, бурление побегов и

листьев, а у плодоносящих деревьев — и цветков. Запасные вещества старой хвои поступают на формирование новой молодой хвои. Однако запасы органических веществ вегетативных органов древесных растений **ограничены**ностью. Часть их остается в запасающих тканях и может выжить по пять очень важную функцию при восстановлении листового аппарата после повреждении его заморозками или поедания насекомыми.

Рост дерева в высоту в текущем году в значительной степени зависит от условий прошлого или даже нескольких прошлых лет, способствовавших или не способствовавших нормальной жизнедеятельности древесных растений и отложению органических веществ в запас. Рост же деревьев и в толщину осуществляется главным образом за счет продуктов текущего фотосинтеза, и лишь небольшая часть запасных веществ дерева идет на прирост по диаметру.

Органические вещества вторичного происхождения

До сих пор в нашем пособии большое внимание уделялось таким органическим веществам, как белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды. Это вещества первичного, или основного, обмена. Но наряду с ними в растениях образуются и вещества вторичного происхождения. К ним относят различные терпеноиды (эфирные масла, каучук, смолы), алкалоиды (никотин, кофеин, морфин, анабазин, люпинин, кокаин, кодеин), глюкозиды (горчичные масла, амигдалин, соланин, антонианы),

фенольные соединения (дубильные вещества незрелых плодов и коры, лигнин) и др.

Вещества основного обмена встречаются в каждой живой клетке. Они входят в состав клеточных структур, участвуют в метаболизме, подвергаются сложным взаимным превращениям, активны в энергообмене. Это — субстратный и энергетический материал, резервные и запасные соединения.

В отличие от них, продукты вторичного происхождения встречаются не у всех растений и обнаруживаются не во всех тканях. Они не имеют большого значения в основном обмене веществ и энергии, не играют существенной роли и как запасные или резервные вещества. Образуются они из продуктов основного обмена и подчиняются тем же регуляторным механизмам, что и первые.

Большинство веществ вторичного происхождения остается в местах их синтеза (эфирные масла, лигнин и др.), некоторые из них образуются в корнях, а откладываются в листьях (никотин и другие алкалоиды) или других частях растений (каучук). Лигнин, раз образовавшись, немедленно выключается из обмена веществ.

Особого рассмотрения заслуживают защитные вещества древесных растений. У хвойных растений большую защитную роль при нападении вредителей и механических повреждениях выполняет живица — сложная смесь твердых смоляных кислот, растворенных в терпентинных маслах. Смоляные кислоты (смолы) предохраняют ткани ствола, ветвей, корней, хвои в месте поранения от проникновения воздуха, а летучие выделения, прежде всего скипидар, убивают микроорганизмы, попавшие на раны. Живица накапливается в смоляных ходах древесины, хвои, первичной коры ствола и корня (сосна, ель, лиственница), коры и хвои (пихта, можжевельник).

Исходным продуктом биосинтеза терпенов, как и каротиноидов, является ацетил-КоА. Промежуточные соединения (мевалоновая кислота, герапилтерпеновый спирт и др.) аналогичны тем, что образуются при синтезе каротиноидов. Герапилтерпеновый спирт в дальнейшем способен давать моно-, ди- и тритерпены. Процесс биосинтеза смоляных кислот еще более сложен. Образуются они по схеме, в которой прослеживается связь с обменом углеводов и органических кислот. Активному образованию живицы способствует наличие достаточного количества ассимилятов, аминокислот, органических и жирных кислот в организме. Процесс идет в анаэробных условиях.

При выдерживании на воздухе живицы, нативно представляющей собой густую вязкую жидкость золотисто-желтого цвета, она превращается в застывшую массу твердой консистенции (канифоль). В составе канифоли находится левопимаровая, дестропимаровая,

а- и -спиновые смоляные кислоты. Живичный скипидар является собой смесь главным образом а- и (б-пинена, Δ^3 -карена.

Кроме живицы, **Контрольные вопросы:** образуют и ряд других защитных веществ: гликозиды, фенолы и некоторые другие. Гликозиды — сложные эфиры, состоящие из углеводов и спиртов (иногда фенолов). Накапливаются они обычно в семенах, плодах, корнях древесных растений. Так, амигдалин в значительных количествах аккумулируется в семенах миндаля. Защитное действие его и многих других гликозидов основано на том, что при распаде они дают очень ядовитую синильную кислоту. Физиологическая роль гликозидов в растениях заключается в нейтрализации некоторых продуктов метаболизма (спиртов, фенолов).

К фенольным соединениям относят органические вещества ароматического ряда, содержащие одну или несколько гидроксильных групп, соединенных с углеродом бензольного кольца. Их делят на три большие группы: 1) C₆-C₁-соединения (протокатеховая и галловая кис-

лоты, орселиновая кислота и построенные на ос основе лишайниковые кислоты); 2) C₆-C₃-соединения (кумарин, конифериловый спирт, феруловая и другие кислоты); 3) C₆-C₃-C₆-соединения (флавоноиды). К фенолам относят и дубильные вещества — соединения, способные «дубить» шкуру животных, превращать ее в кожу. Эквивалентом термину «дубильные вещества» в чайной промышленности служит термин танины, а в кожевенной — танииды. Оказалось, что дубильные вещества — это комплекс фенольных соединений. Постепенно по мере расшифровки этого комплекса термин «дубильные вещества» в научной литературе используется все реже и реже. Очень много полифенольны; соединений накапливается в коре (до 20%) и галлах — опухолевых образованиях на листьях дуба (до 75%), в листьях эвкалипта (до 50%), чая (до 20%), коре ив (до 13%). Исходными веществами для синтеза фенольных соединений служат шикимовая кислота (шикиматный путь) и ацетил-КоА (ацетатно-малонатный путь). Физиологическая роль фенольных веществ изучена еще слабо. Терпкий неприятный вкус коры или листьев с большим количеством дубильных веществ предохраняет растения от поедания животными.

Эфирные масла, гликозиды, полифенолы и некоторые другие вещества обладают достаточно высокой биологической активностью и способны, губительно действовать на микроорганизмы. Они получили специальное название — фитоноиды. В значительной степени с фитонидами связано появление нового научного направления — аллелопатии, изучающей взаимное влияние растений в фитоценозах через различные прижизненные выделения.

Образование веществ вторичного происхождения связывают с процессами дифференцировки, так как недифференцированные меристематические клетки их не содержат. Из схемы (рис. 70), иллюстрирующей связь обмена первичных и вторичных веществ, видно, что исходным соединением для синтеза многих вторичных веществ является ацетил-КоА.

Превращение органических веществ в семенах

Основными формами запасных веществ в семенах являются крахмал, жиры и белки. Все семена по преобладающей форме запасных веществ делят на крахмалистые и маслянистые. К первой группе относят семена большинства хлебных злаков и зернобобовых, каштана, акаций, дуба и некоторых других. Семена с преобладанием жиров формируются у конопли, льна, мака, подсолнечника, хлопчатника, а из древесных растений у кедра, сосны, ели, пихты, тисса и других хвойных, а также у липы, грецкого ореха, лещины, буков и многих других. Например, в семенах дуба черешчатого содержится около 47% крахмала и всего лишь 3% жира, и семенах сосны — до 35% жиров и менее 5% углеводов (в основном гемицеллюз при почти полном отсутствии крахмала). Семена обеих групп накапливают значительные количества запасных белков, причем маслянистые семена содержат, как правило, больше белков, чем крахмалистые.

При созревании семян и плодов наблюдаются глубокие превращения разнообразных органических веществ. И в семена и плоды из листьев притекает большое количество углеводов и азотсодержащих веществ, прежде всего аминокислот и амидов. Сразу после цветения начинается формирование зародыша, образование новых клеток, рост тканей семени.

По мере завершения роста зародыша в созревающих семенах происходит накопление больших количеств сахара (у злаков эту фразу называют молочной спелостью). Затем начинается синтез крахмала.

В крахмалистых семенах процесс синтеза крахмала продолжается до полного созревания, в результате чего семена становятся твердыми и крепкими. Важно отметить, что превращение глюкозы в крахмал происходит и на ранних этапах созревания маслянистых семян. Так, например, в начале июля в семенах лещины содержится около 8% сахара, 22% крахмала и только 3% жира. Лишь на самых заключительных этапах созревания маслянистых семян происходит интенсивное накопление различных масел и других жироподобных веществ. Так, у той же лещины за три месяца летом количество жира в семенах увеличивается в 20 раз, а углеводов уменьшается в 7 раз.

Жиры синтезируются из глицерина и жирных кислот, которые, в свою очередь, образуются из продуктов гликолитического расщепления глюкозы: глицерин — из фосфоглицеринового альдегида (ФГА), а жирные кислоты — из ацетил-кофермента А. Существенные изменения биохимического состава наблюдаются по мере созревания плодов у плодовых древесных культур. Завязавшиеся плоды яблони по содержанию органических веществ мало отличаются от зеленых листьев. Затем в околоплодниках накапливается очень много клетчатки, гемицеллюлозы. Крахмала, органических кислот, дубильных веществ. Поэтому зеленые яблоки очень твердые, кислые и несъедобные. По ходу созревания количество крахмала и других названных компонентов резко уменьшается, повышается содержание различных сахаров, синтезируется много витаминов (аскорбиновой кислоты, каротина, никотиновой и фолиевой кислот и др.), различных ароматических веществ, антоцианов, и плоды приобретают свою обычную привлекательность, становятся сладкими, ароматными, приятными на вкус и мягкими благодаря гидролизу пектиновых веществ, склеивавших до этого стенки мякоти плода. У зимних сортов яблонь большинство из указанных превращений происходит уже после снятия плодов с дерева, во время лежки, когда притока новых органических веществ из листа уже не происходит.

После полного созревания обмен веществ в семенах существенно изменяется и постепенно снижается до минимума. Количество воды начинает быстро падать ввиду снижения гидрофильности коллоидов клеток семян. Это ведет к снижению активности имеющихся молекул ферментов, которые связываются с запасными белками. Понижается синтетическая деятельность семян в связи с уменьшением содержания и РНК и потерей функций поли рибосом, которые исчезают полностью. Резко уменьшается интенсивность процесса дыхания. Накапливаются ингибиторы роста. Клетки семян переходят в состояние покоя.

Л-14, 15 Физиологические основы устойчивости растений

Основные вопросы

Общие понятия: стресс, адаптация, устойчивость

Растения часто подвергаются воздействию неблагоприятных факторов (стрессоров). В ответ на их действие организм переходит в состояние стресса. Термин «стресс» был выдвинут выдающимся канадским ученым Г. Селье в 1972 г. Данный термин быстро завоевал популярность в физиологии, поскольку объединил в себе виды воздействия на организм разнокачественных повреждающих факторов без количественной оценки эффекта, вызываемого каждым из стрессоров в отдельности.

Совокупность всех неспецифических изменений, возникающих в организме под влиянием стрессоров, включая перестройку защитных сил организма, называется стрессом. Его сила зависит от скорости, с которой возникают ~~н~~благоприятные

ситуации. Есть три фазы стресса: 1) первичная стрессовая реакция; 2) адаптация; 3) истощение ресурсов надежности. Явления, наблюдаемые у растений при действии стрессоров, могут быть отнесены к категории:

повреждения, проявляющиеся на различных уровнях структурной и функциональной организации растения, например денатурация белков, нарушение метаболизма и торможение роста растяжением при обезвоживании клеток в условиях засухи или почвенного засоления;

ответные реакции, позволяющие растениям приспособиться к новым стрессовым условиям: они затрагивают экспрессию генов, метаболизм, физиологические функции и гомеостаз. Совокупность такого рода реакций называется акклиматизацией. В процессе нее растение приобретает устойчивость к действию стрессора. Акклиматизация происходит при жизни организма и не наследуется. Вместе с тем она осуществляется на основе тех возможностей, которые заложены в генотипе, т.е. в пределах нормы реакции. Пример данного явления - закаливание.

Как конститутивные, так и формирующиеся в ходе акклиматизации защитные механизмы могут быть разделены на две основные категории. Они представлены ниже.

1. Механизм избежания позволяет растению избежать действия стрессоров. Пример - поглощение воды, глубоко проникающей в грунт, корневой системой растений. У некоторых ксерофитов длина корневой системы достигает нескольких десятков метров, что позволяет растению использовать грунтовую воду и не испытывать недостатка влаги в условиях почвенной и атмосферной засухи. Механизмы ионного гомеостатирования цитоплазмы у растений, устойчивых к поченному засолению, связаны со способностью поддерживать концентрацию ионов натрия и хлора в цитоплазме при почвенном засолении, что позволяет этим растениям избежать токсического действия ионов на цитоплазматические биополимеры.

2. Механизмы резистентности (выносливости) позволяют растениям, не избегая действия стрессора, приспособиться к стрессовым условиям. Пример - биосинтез нескольких изоферментов, осуществляющих катализ одной и той же реакции; при этом каждая изоформа обладает необходимыми каталитическими свойствами в относительно узком диапазоне некоторого параметра окружающей среды, температуры. Весь набор изоферментов позволяет растению осуществлять реакцию в значительно более широком температурном диапазоне, чем в условиях работы изофермента, и, следовательно, приспособливаться к изменяющимся температурным условиям.

Важную роль в устойчивости растений к действию стрессоров играют адаптация.

Адаптация - это генетически детерминированный процесс формирования защитных систем, обеспечивающих повышение устойчивости и протекания онтогенеза в ранее неблагоприятных для него условиях, приспособление организма к конкретным условиям существования.

Пример адаптации растений к засухе - морфологические особенности кактусов, имеющих мясистый стебель, листья-иголки, незначительное число устьиц, глубоко посаженных в ткань, толстую кутикулу и ряд других признаков, позволяющих кактусам осуществлять жизненный цикл в режиме экономии влаги и, таким образом, выживать в условиях засушливого климата. Адаптация проявляется на биохимическом уровне. Пример - биосинтез стероидных псевдоалкалоидов у некоторых пасленовых, в частности у картофеля, токсичных для травоядных животных и насекомых - фитофагов.

У индивидуума она достигается за счет физиологических механизмов (физиологическая адаптация), а у их популяции - за счет механизмов изменчивости и наследственности (генетическая адаптация). Адаптация включает все процессы (анатомические, морфологические, физиологические, поведенческие, популяционные и др.): от самой незначительной реакции организма на изменение условий, способствующей повышению устойчивости, до выживания конкретного вида. В отличие от акклиматизации, адаптация - наследственно закрепленный конститутивный

признак, присутствующий в растении независимо от того, находится оно в стрессовых условиях или нет. Адаптация позволяет популяции организмов приспособиться к соответствующим **Контрольным** **составляющим** среды. Сохранение жизни на Земле является результатом непрерывной адаптации живых существ.

Устойчивость является конечным результатом адаптации. Устойчивостью (стресс - толерантностью, биологической устойчивостью) называется способность растения переносить действие неблагоприятных факторов и давать в этих условиях потомство.

Наиболее чувствительны к действию неблагоприятных факторов внешней среды молодые растения. В дальнейшем устойчивость растений повышается и продолжает увеличиваться до начала заложения цветков. В период формирования гамет, цветения, оплодотворения растения вновь очень чувствительны к стрессорам. Затем их устойчивость повышается (вплоть до созревания семян).

Действию стрессорных факторов подвергаются не только дикие, но и культурные растения. Любой экстремальный фактор оказывает отрицательное влияние на рост, накопление биомассы, в конечном итоге - на урожай.

Помимо устойчивости к факторам внешней среды растения должны обладать защитой от биотических факторов (прежде всего - от микроорганизмов-патогенов). Эволюция микроорганизмов с самого начала была направлена на постепенное разрушение биомассы, образуемой растениями, и включение высвобожденных элементов в начальные звенья круговорота. Фитопатогены могут вызывать физиологические и биохимические изменения.

Наиболее частыми нарушениями строения и структуры тканей, происходящими под влиянием патогена, являются: гипертрофия (увеличение размера и формы клеток), гиперплазия (увеличение количества клеток), гипоплазия (уменьшение количества и размера клеток), некроз, мацерация (размягчение и распад ткани). Вследствие повреждения корней и сосудистой системы нарушается поступление воды. Может происходить повышение или понижение скорости транспирации в результате изменения характера усть- ичных движений, а также сокращения числа устьиц.

Патогены проникают в растение через кутикулу и эпидермис (головневые грибы), через естественные проходы - устьица, чечевички (бактерии), поранения (в основном факультативные паразиты). Патогены существенно влияют на интенсивность дыхания, значительно снижают фотосинтетическую активность, нарушают азотный и углеводный обмены и т.д.

Устойчивость к болезни есть способность растения предотвращать, ограничивать или задерживать ее развитие.

Устойчивость может быть неспецифической (или видовой) и специфической (или сортовой).

Видовая устойчивость защищает растения от огромного количества сапроптических микроорганизмов. Ее называют фитоиммунитетом, так как видовая устойчивость касается болезней, неинфекционных для данного вида растения. Благодаря видовой устойчивости каждый вид растений поражается лишь немногими возбудителями.

Специфическая устойчивость связана с паразитами, способными преодолевать видовую устойчивость растения и поражать растение в той или иной степени. Эта устойчивость важна для культурных растений, т.к. патогенные микроорганизмы могут снижать урожайность от 15 до 95 %.

Агрономическая устойчивость - способность организмов давать высокий урожай в неблагоприятных условиях.

Степень снижения урожая под влиянием стрессоров является показателем устойчивости растений к ним. Создание человеком высокопродуктивных сортов часто приводит к снижению устойчивости. Причина в том, что чем больше энергетических

ресурсов растение тратит на поддерживание высокой устойчивости, тем меньше их остается для формирования урожая, и наоборот. Многие культурные растения не могут сами развиваться и **Контрольные вопросы** человека, создающего для них благоприятные условия. В результате хозяйственной деятельности человека появляются новые неблагоприятные факторы, против действия которых растения еще не выработали защитное приспособление в процессе эволюции.

Устойчивость к неблагоприятным факторам среды определяет характер распределения различных видов растений по климатическим зонам. Большинство сельскохозяйственных культурных растений вынуждены постоянно находиться в стрессовых условиях, поэтому обычно реализуется только 20 % их генетического потенциала.

Типы ответных реакций растений на действие неблагоприятных факторов

Выбор растением способа адаптации зависит от многих факторов. Однако ключевым фактором является время, предоставленное организму для ответа. Чем больше времени предоставляется для ответа, тем больше выбор возможных стратегий. При внезапном действии экстремального фактора ответ должен последовать незамедлительно. В соответствии с этим различают три главные стратегии адаптации: эволюционные, онтогенетические, срочные.

Эволюционная (филогенетическая) адаптация - это адаптация, возникающая в ходе эволюционного процесса на основе генетических мутаций отбора и передающаяся по наследству. Результатом таких адаптаций является оптимальная подгонка организма к среде обитания. Системы выживания, сформированные в ходе эволюции, наиболее надежны. Пример - анатомоморфологические особенности растений, обитающих в самых засушливых пустынях земного шара, а также на засоленных территориях. Однако изменения условий среды, как правило, являются слишком быстрыми для возникновения эволюционных приспособлений. В этих случаях растения используют не постоянные, а индуцируемые стрессором защитные механизмы, формирование которых генетически предопределено. В основе образования таких защитных систем лежит изменение дифференциальной экспрессии генов.

Онтогенетическая (фенотипическая) адаптация обеспечивает выживание данного индивида. Она не связана с генетическими мутациями и не передается по наследству. Формирование такого рода приспособлений требует сравнительно много времени, поэтому такую адаптацию называют долговременной. Пример - переход некоторых С₃-растений на CAM-тип фотосинтеза, позволяющий экономить воду, в ответ на засоление и жесткий водный дефицит.

Срочная адаптация основана на образовании и функционировании шоковых систем и происходит при быстрых и интенсивных изменениях условий обитания. Обеспечивает лишь кратковременное выживание при повреждающем действии фактора; создаются условия для формирования более надежных долговременных механизмов адаптации. К шоковым защитным системам относятся система теплового шока (в ответ на быстрое повышение температуры), SOS - система (сигнал для ее запуска - повреждение ДНК).

Активная адаптация - формирование защитных механизмов. При этом обязательным условием выживания является индукция синтеза ферментов с новыми свойствами или новых белков, обеспечивающих защиту клетки и протекание метаболизма в ранее непригодных для жизни условиях. Результат - расширение экологических границ жизни растения.

Пассивная адаптация - «уход» от повреждающего действия стрессора или приспособление к нему. Этот тип адаптации имеет огромное значение для растений, т. к. они не могут убежать или спрятаться от вредного воздействия фактора. Это переход в состояние покоя, способность растений изолировать «агрессивные» соединения

(такие, как тяжелые металлы в стареющих органах, тканях или вакуолях), т. е. сосуществовать с ними.

Короткий онтогенез растений позволяет им сформировать семена до наступления неблагоприятных условий. Однако для выживания в экстремальных условиях растительные организмы часто используют как активные, так и пассивные пути адаптации. Например, в ответ на повышение температуры воздуха растение «уходит» от действующего фактора, понижая температуру тканей за счет транспирации, и одновременно активно защищает клеточный метаболизм от высокой температуры, синтезируя белки теплового шока.

Надежность растительного организма определяется его способностью не допускать или ликвидировать отказы на разных уровнях: молекулярном, субклеточном, клеточном, тканевом, органном, организменном и популяционном. Для предотвращения отказов используются системы стабилизации: принцип избыточности, принцип гетерогенности равнозначных компонентов, механизмы гомеостаза. Для ликвидации возникших отказов служат системы репарации. На каждом уровне биологической организации действуют свои механизмы. Например, на молекулярном уровне принцип избыточности находит свое выражение в полиплоидии, на организменном - в образовании большого количества гамет и семян. Примером восстановительной активности на молекулярном уровне служит энзиматическая репарация поврежденной ДНК, на организменном - пробуждение пазушных почек при повреждении апикальной меристемы, регенерация и т. д.

Защита растений от неблагоприятных факторов среды обеспечивается особенностями анатомического строения (кутикула, корка, механические ткани и т. д.), специальными органами защиты (жгучие волоски, колючки), двигательными и физиологическими реакциями, выработкой защитных веществ (смолы, фитоалексины, фитонциды, токсины, защитные белки). Надежность организма проявляется в эффективности его защитных приспособлений, устойчивости к действию неблагоприятных факторов внешней среды.

Л-16 Устойчивость растений к абиотическим и биотическим факторам внешней среды

Основные вопросы

Характеристика факторов внешней среды

Факторы, вызывающие стресс у растения, подразделяются на три группы: физические, химические, биологические. Действие одного и того же фактора при одном и том же уровне интенсивности может вызывать или не вызывать стресс у растения, в зависимости от его сопротивляемости.

Механизмы устойчивости и пути адаптации растений

к различным неблагоприятным факторам

Различные структурные и физиологические механизмы позволяют растениям противостоять особо неблагоприятным воздействиям. Рассмотрим некоторые из них.

От водного дефицита и неблагоприятных температурных воздействий растения защищаются тремя главными способами: с помощью механизмов, которые дают возможность избежать неблагоприятных воздействий; с помощью специальных структурных приспособлений; благодаря физиологическим свойствам, позволяющим преодолеть пагубное влияние окружающей среды.

Избежать воздействия неблагоприятных условий растения могут, проведя это время в форме устойчивых семян или в состоянии покоя. Например, у древесных пород зимуют только более устойчивые к холоду ветви и покрытые жесткими чешуевидными листьями почки. Таким же способом растения могут противостоять и водному дефициту. У растений пустынь листья сохраняются только в период дождей.

Структурные приспособления растений в экстремальных условиях имеются либо на протяжении всей их жизни, либо на каком-то определенном этапе развития.

Назначение приспособлений - ограничить потери воды: листья покрыты толстым слоем воскообразной кутикулы (водонепроницаемый барьер); густое опушение и погруженные устьица **Контрольные вопросы** (верхности листа слоя влажного воздуха); снижение интенсивности транспирации. У некоторых растительных организмов листья очень мелкие или их совсем нет, у них ограничена площадь поверхности, с которой идет испарение. У других организмов - сочные листья и стебли, в них сохраняются запасы воды. Растениям характерна карликовость, что ослабляет иссушающее и охлаждающее действие ветра.

Физиологическое приспособление позволяют растениям выживать в условиях жары, холода, засухи. Многим суккулентам характерен универсальный механизм фотосинтеза, сводящий к минимуму потери воды (CAM- метаболизм). Эти растения открывают устьица и фиксируют углекислый газ в темноте, когда транспирация минимальна, и закрывают устьица на свету. Эффективный фотосинтез протекает у них при закрытых устьицах благодаря челночному механизму, перекачивающему углекислый газ от C_4 - к C_3 - системе.

Этот механизм важен для выживания растений в пустыне. Сходные приспособления позволяют организмам избежать повреждений под действием мороза. Повышение концентрации растворенных веществ уменьшает вероятность образования крупных кристаллов льда. В клеточных мембранах происходят изменения, делающие эти мембранны менее хрупкими при низких температурах.

Увеличивается синтез белков, обладающих особо высокой способностью к гидратации. Гидратационная вода практически не замерзает, она удерживается вблизи молекул белка силами, которые предотвращают образование кристаллов льда. Растения, переносящие засуху, - засухоустойчивые растения.

Растения - мезофиты менее устойчивы к засухе; они, в отличие от ксерофитов, формируют защитные механизмы лишь в ответ на засуху (онтогенетическая адаптация). Механизмы устойчивости таковы: сокращение потерь воды за счет торможения дальнейшего увеличения листовой поверхности, ингибирование растяжения, деления клеток; сокращение потерь воды за счет уменьшения площади листовой поверхности (сбрасывание листьев, при этом большая роль принадлежит ауксину и этилену; свертывание листьев в трубочку, причем испаряющая поверхность оказывается внутри); стимуляция роста корневой системы; уменьшение потерь воды за счет закрытия устьиц; аккумуляция низкомолекулярных соединений; повышение эффективности использования воды (переключение C_3 -типа фотосинтеза на CAM-тип). В растениях много генов, регулируемых водным дефицитом и кодирующими различные белки; интенсивность определяется спецификой тканей, органов, зависит от стадии онтогенеза и характера стресса.

Растения, способные переносить высокую температуру, называют жароустойчивыми. У них помимо механизмов, характерных для ксерофитов, включается механизм образования белков теплового шока.

По реакции на низкие температуры различают морозо- и холдоустойчивые растения. Зимостойкость - это способность растений переносить целый комплекс неблагоприятных условий, связанных с перезимовкой. В этот период наблюдаются следующие явления: выпревание, вымокание, ледяная корка, выпирание, зимняя засуха, зимне-весенние «кожоги».

Солеустойчивость (галотолерантность) - это устойчивость растений к повышенной концентрации солей в почве или воде. Галофиты - растения, имеющие специальные приспособления для нормального завершения онтогенеза в условиях высокой засоленности. Галофиты делят на три группы настоящие, солевыделяющие, солепроницаемые.

Настоящие галофиты - наиболее солеустойчивые растения. Они накапливают в вакуолях значительное количество солей. Для растений характерна мясистость листьев.

Солевыделяющие галофиты (криногалофиты), поглощая соли, не накапливают их внутри тканей, а выводят из клеток с помощью секреторных железок, расположенных на **Контрольные вопросы**. Их выведение осуществляется с помощью ионных насосов и сопровождается транспортом большого объема воды.

Соленепроницаемые галофиты (гликогалофиты) растут на менее засоленных почвах. Их высокое осмотическое давление поддерживается за счет продуктов фотосинтеза.

Поскольку галофитам трудно получать воду из засоленной почвы, то у них выработались некоторые признаки ксерофитов (толстая кутикула, погруженные устьица, водозапасающие ткани в листьях).

Механизмы солеустойчивости галофитов таковы: 1) поддержание ионного гомеостаза; 2) снижение водного потенциала клеток; 3) адаптация к условиям засоления.

Влияние засоления. Изменение соотношения ионов в клетке в пользу натрия сопровождается инактивацией ферментов и нарушением метаболизма. Наблюдаются нарушение ионного гомеостаза, замедление синтеза и ускорение распада белков, изменяются работа трансаминаз и протекание реакций переаминирования. В клетках идет накопление токсических веществ. Торможение роста заключается в снижении интенсивности фотосинтеза из-за дефицита двуокиси углерода, вызванного закрыванием устьиц. Изменяется структура органоидов. Увеличивается проницаемость мембран. Клетки в зоне корневых волосков повреждаются, что приводит к плохому поглощению элементов минерального питания. Длительное засоление приводит к снижению интенсивности дыхания. Избыток солей может вызвать асинхронные деления меристематических клеток, в результате наступает ксероморфность.

На затопляемых территориях растут гидрофиты. Их особенность - наличие аренхимы, не развивается механическая ткань, нет кутина и суберина. Восходящий ток воды поддерживается за счет корневого давления и выделения воды через гидатоды. У некоторых есть дыхательные корни.

Таким образом, на протяжении жизни каждого растительного организма в процессе эволюции вырабатывались определенные потребности в условиях существования. Вместе с тем каждый организм обладает способностью к адаптации, т. е. приспособлению к меняющимся условиям среды. И то, и другое свойство организма заложено в его генетической основе. Чем больше способность организма изменять метаболизм в соответствии с меняющимися условиями среды, тем больше его норма реакции и способность к адаптации. Приспособление растений к внешним факторам повышает их жизнеспособность и устойчивость к экстремальным факторам среды. Способность переносить неблагоприятные факторы у разных растений неодинакова. Одни растения более устойчивы к низким температурам, другие - к высоким, одни переносят засуху, другие - засоление и т. д.

Поэтому выделяют различные виды устойчивости: морозоустойчивость, холодоустойчивость, солеустойчивость, газоустойчивость и т. д.

Приспособляемость растений возникла исторически и изменялась в процессе индивидуального развития. Устойчивость обеспечивается особенностями анатомического строения, специальными органами защиты, двигательными и физиологическими реакциями, выработкой защитных веществ. Устойчивость растения к одному из факторов может привести к его устойчивости к другому (например, жароустойчивость и засухоустойчивость).

При медленном развитии неблагоприятных условий организм легче приспособливается к ним. Это может привести к повышению устойчивости организма, т. е. его закаливанию.

Закаливание растений

Устойчивость растений к низким температурам можно повысить с помощью

закаливания.

Закаливание - процесс повышения устойчивости растительных организмов к низким температурам.

Контрольные вопросы:

Оно подготавливает весь комплекс защитных средств растения, ускоряется при остановке ростовых процессов и осуществляется при постепенном снижении температуры, а для ряда организмов - и при укороченном фотопериоде. В нашей стране теория закаливания разработана И. И. Тумановым в 1950 г. Согласно ей растения проходят три этапа подготовки: переход в состояние покоя; первая фаза закаливания; вторая фаза закаливания. Переход в состояние покоя без последующих этапов ненамного повышает устойчивость растений к низким температурам.

Процесс перехода в состояние покоя сопровождается смещением баланса фитогормонов в сторону уменьшения содержания ауксинов и гиббереллинов и увеличения содержания абсцизовой кислоты. Обработка ингибиторами роста повышает устойчивость организма к низким температурам, а обработка стимуляторами роста приводит к снижению устойчивости этих растений. У древесных растений покой наступает в начале осени и в первую фазу закаливания лишь углубляется, у травянистых растений переход в состояние покоя сопровождает первую фазу закаливания.

Первую фазу закаливания озимые злаки проходят на свету при низких положительных температурах за 6-9 дней, древесные - за 30 дней. Останавливается рост, в клетках накапливаются соединения, выполняющие защитную функцию (сахара, растворимые белки и т. д.), в мембранах возрастает содержание ненасыщенных жирных кислот, снижается точка замерзания цитоплазмы, уменьшается объем внутриклеточной воды, что тормозит образование внутриклеточного льда.

Вторая фаза закаливания отмечается постепенным снижением температуры. Эта фаза происходит при температурах ненамного ниже нуля градусов и не зависит от света. Постепенно уменьшается объем связанной воды. Изменение структуры белковых молекул приводит к тому, что они лучше связывают воду. Увеличение объема связанной воды снижает возможность образования льда. Увеличивается проницаемость плазмалеммы. В межклетниках образуется лед, что предотвращает образование льда в протопласте.

Начинают функционировать механизмы защиты от обезвоживания, подготовленные в течение первой фазы закаливания.

Однако не все растения способны к закаливанию.

Радиоустойчивость растений и ее механизмы

Различают прямое и косвенное действие радиации на организм. Прямое состоит в радиационно-химических превращениях молекул в месте поглощения энергии излучения. Прямое попадание в молекулу приводит ее в возбужденное, или ионизированное, состояние. Поражающее действие связано с ионизацией молекулы.

Косвенное действие состоит в повреждении молекул, мембран органоидов, клеток, вызываемом продуктами радиолиза воды, количество которых в клетке при облучении очень велико. Заряженная частица излучения, взаимодействуя с молекулой воды, вызывает ее ионизацию. Ионы воды способны образовывать химически активные свободные радикалы и пероксиды. В присутствии растворенного в воде кислорода возникают также мощный окислитель и новые пероксиды. Эти окислители могут повредить многие биологически важные молекулы: нуклеиновые кислоты, белки-ферменты, липиды мембран и т. д. Кроме того, при взаимодействии радикалов воды с органическими веществами в присутствии кислорода образуются органические пероксиды, что способствует повреждению молекул и структур клетки.

При понижении концентрации кислорода в среде (ткани) эффект лучевого поражения уменьшается, и наоборот. Этот «кислородный эффект» проявляется на всех уровнях организации. Прямое действие радиации на молекулы объясняют теория

«мишеней или попаданий» и вероятностная гипотеза.

Согласно первой теории, попадание ионизирующей частицы в мишень молекулы или структуры клетки приводит к повреждению, генетическим изменениям и гибели. С увеличением дозы радиации количество повреждений увеличивается.

Согласно вероятностной гипотезе, взаимодействие излучения с мишенью происходит по принципу случайности. Дальнейшие изменения связаны с непрямым действием излучений. Наиболее чувствительны к радиации активные меристемы.

Механизмы радиоустойчивости: системы восстановления ДНК, способствующие уменьшению числа повреждений, изменений в хромосомах; вещества-радиопротекторы (сульфгидрильные соединения, например глутатион, цистеин и др.; восстановители, например аскорбиновая кислота, ионы металлов, ряд ферментов и кофакторов, ингибиторы метаболизма, активаторы и ингибиторы роста и т.д.); функция этих веществ - гашение свободных радикалов, возникающих при облучении; восстановление на уровне организма (неоднородность делящихся клеток меристем, асинхронность делений в меристемах, существование в апикальных меристемах фонда клеток покоящегося центра, в покоящихся меристемах - спящих почек).

Общие механизмы устойчивости
и характеристика адаптационного процесса
Общие принципы адаптивных реакций растений
на экологический стресс

Стресс - общая неспецифическая адаптационная реакция организма на действие любых неблагоприятных факторов.

На клеточном уровне к первичным неспецифическим процессам, происходящим при нарастающем действии стрессора, относятся: повышение проницаемости мембран, деполяризация мембранных потенциала плазма-леммы; вход ионов кальция в цитоплазму из клеточных стенок и внутриклеточных компартментов (вакуоли, ЭПС, митохондрии); сдвиг pH цитоплазмы в кислую сторону; активация сборки актиновых микрофиламентов и сетей цитоскелета, в результате чего возрастает вязкость и светорассеивание цитоплазмы; усиление поглощения кислорода, ускоренная траты АТФ, развитие свободорадикальных реакций; ускорение гидролитических процессов; активация и синтез стрессовых белков; усиление активности водородной помпы в плазмалемме (возможно, и в тонопласте), что препятствует неблагоприятным сдвигам ионного гомеостаза; увеличение синтеза этилена и абсцизовой кислоты, торможение деления и роста, поглотительной активности клетки и других физиологических и метаболических процессов.

Эти стрессовые реакции наблюдаются при действии любого стрессора. Они направлены на защиту внутриклеточных структур и устранение неблагоприятных изменений в клетках. Данные явления взаимосвязаны и развиваются как каскадные реакции. Стressоры оказывают и специфическое влияние: синтез стрессовых белков и увеличение содержания пролина и т. д.

Охарактеризуем механизмы адаптации на организменном уровне. Чем выше уровень биологической организации, тем большее число механизмов одновременно участвует в адаптации растений к стрессовым воздействиям. На этом уровне сохраняются все механизмы адаптации, свойственные клетке, но они дополняются новыми, отражающими взаимодействие органов растений.

При конкурентных отношениях между органами за физиологически активные вещества и трофические факторы отношения построены на силе ат-трагирующего действия. Этот механизм позволяет растениям в экстремальных условиях сформировать такой минимум генеративных органов (аттрагирующих центров), которые они в состоянии обеспечить необходимыми веществами для нормального созревания.

В процессе замены поврежденных или утраченных органов путем регенерации и

роста пазушных почек участвуют межклеточные системы регуляции (гормональная, трофическая, электрофизиологическая).

В растениях **Контрольные вопросы** обработка этилена и абсцизовой кислоты, что снижает обмен веществ, тормозит ростовые процессы, способствует старению и опадению органов, переходу растения в состояние покоя. Одновременно в тканях снижается содержание ауксина, цитокинина, гиббереллинов. Ведущая роль принадлежит фитогормонам, тормозящим функциональную активность растений.

При адаптации на популяционном уровне в условиях длительного стресса гибнут те индивидуумы, генетическая норма реакции которых на данный экстремальный фактор ограничена узкими пределами. Эти растения устраняются из популяции, а семенное потомство образуют лишь генетически более устойчивые растения. Общий уровень устойчивости в популяции возрастает. В стрессовую реакцию включается дополнительный фактор - отбор, приводящий к появлению более приспособленных организмов и новых видов (генетическая адаптация). Предпосылка - внутрипопуляционная вариабельность уровня устойчивости к тому или иному фактору или группе факторов.

Изменение экспрессии генов. Синтез стрессовых, мембранных, структурных белков. Перестройка мембранных систем

Почти все растения отвечают на действие любого стрессора активацией разных групп генов и синтезом кодируемых ими защитных белков. Система «белки теплового шока» (БТШ) - древняя и консервативная. Выделяют пять групп белков теплового шока. Главные отличия системы белков теплового шока растений - это многокомпонентность и сложность состава низкомолекулярных полипептидов. Именно с функционированием низкомолекулярных БТШ связывают защитную роль данной системы в растениях.

Эти белки локализуются в ядре, цитозоле, клеточных органеллах. Повышение температуры инициирует полное перепрограммирование метаболизма, которое обеспечивает поддержание жизни растения в экстремальных условиях. Гены БТШ лишены инtronов, мРНК имеет полупериод жизни 2 ч, а белки - около 20 ч, в течение которого клетка сохраняет терморезистентность. Некоторые из этих белков предсуществуют в цитоплазме и в условиях стресса активируются фрагментированием.

В ядре и ядрышке БТШ образуют гранулы, связывая матрицы хроматина, необходимые для нормального метаболизма. После прекращения стрессового состояния эти матрицы вновь освобождаются и начинают функционировать. Один из белков стабилизирует плазмалемму, проницаемость которой в условиях стресса возрастает. Кроме синтеза шоковых белков, показывающего, что в геноме записана специальная программа, связанная с переживанием стресса, в клетках возрастает содержание углеводов, пролина, которые участвуют в защитных реакциях, стабилизируя цитоплазму.

При водном дефиците и засолении у ряда растений содержание пролина в цитоплазме возрастает в 100 раз и более. Благодаря своим гидрофильным группам пролин может образовывать агрегаты, функционирующие как гидрофильные коллоиды. Этим объясняется высокая растворимость пролина, а также его способность связываться с поверхностными гидрофильными остатками белков. Необычный характер взаимодействия агрегатов пролина с белками повышает растворимость белков и защищает их от денатурации. Накопление пролина как осмотически активного органического вещества благоприятствует удержанию воды в клетке.

Действие засухи приводит к уменьшению в клетках свободной воды, что изменяет гидратные оболочки белков цитоплазмы и сказывается на функционировании белков-ферментов. Снижается активность ферментов синтеза и активируются гидролитические процессы, что ведет к увеличению числа низкомолекулярных белков. В клетках в результате гидролиза полисахаридов накапливают 88 растворимые

углеводы, отток которых из листьев замедлен. Снижается количество РНК (вследствие торможения ее синтеза и активации рибонуклеаз). Идет распад полирибосомных комплексов. Длительное воздействие привести к изменению структуры ДНК. В растениях существует огромное количество генов, регулируемых водным дефицитом и кодирующих различные белки: регуляторные, защитные (шапероны), ферменты.

У растений существует мощная система защиты от воздействия тяжелых металлов (ТМ). В ответ на недостаток кислорода растения изменяют дифференциальную экспрессию генов (как и при тепловом шоке и водном дефиците). Наблюдается резкое торможение синтеза белков аэробного метаболизма; синтезируются новые белки.

При низкой температуре проявляется «чистый» эффект пониженных температур на обмен веществ растений. Основная причина ускорения распада белков и накопления в тканях растворимых форм азота - нарушение функциональной активности мембран из-за перехода насыщенных жирных кислот, входящих в их состав, из жидкокристаллического состояния в состояние геля. В мембранах холодоустойчивых растений много ненасыщенных жирных кислот, что позволяет поддерживать мембранны в жидком состоянии.

Переход насыщенных жирных кислот в ненасыщенное жидкокристаллическое состояние происходит с помощью специальных десатурирующих ферментов - десатураз. Ненасыщенные жирные кислоты увеличивают текучесть мембран.

Усиливается синтез стрессорных белков холодового ответа. Идентифицировано несколько генов и кодируемых ими белков холодового ответа, их обозначают как COR-белки (cold-responsive proteins). Морозоустойчивость является признаком, контролируемым многими генами. Синтезируются молекулярные шапероны, предотвращающие денатурацию белков при низких температурах.

Выживание растения в условиях избыточного засоления зависит не от солетолерантности самих белков, а от их микроокружения, способности клеток поддерживать ионный гомеостаз. Совместимые осмолиты (сахара, сахароспирты, свободные аминокислоты и др.) понижают водный потенциал, защищают мембранны, ферменты, структурные и регуляторные макромолекулы. Повышение концентрации этих веществ идет за счет активации работы генов, контролирующих ферменты синтеза осмолитов, и ингибирования экспрессии других генов, ответственных за их разрушение.

Активация генов, кодирующих регуляторные белки, ферменты синтеза гормонов и т. д. Синтез стрессовых, мембранных, структурных белков, синтез протекторных соединений - это биохимическая адаптация.

Биохимическая адаптация

Виды биохимической адаптации к некоторым экстремальным факторам внешней среды были рассмотрены выше. Рассмотрим биохимические механизмы адаптации растений к засухе. Они предотвращают обезвоживание клетки, обеспечивают детоксикацию продуктов распада, способствуют восстановлению нарушенных структур цитоплазмы. Высокая водоудерживающая способность цитоплазмы сохраняется при накоплении низкомолекулярных гидрофильных белков, связывающих значительный объем воды в виде гидратных оболочек. Этому способствует взаимодействие белков с проли-ном, концентрация которого в условиях стресса резко возрастает, а также увеличение числа моносахаров в цитоплазме.

Приспособление, уменьшающее потерю воды, является особым типом метаболизма - САМ-метаболизмом. Детоксикация избытка аммиака осуществляется с участием органических кислот, количество которых возрастает в тканях при водном дефиците. Защита ДНК - частичное выведение молекулы из активного состояния с помощью ядерных белков и с участием стрессовых белков.

Существенная перестройка происходит при водном дефиците 89 гормональной

системе растений. Уменьшается содержание гормонов - активаторов роста (ауксин, цитокинин, гиббереллины, стимуляторы роста фенольной природы), и возрастает уровень абсцизовой **Контрольные вопросы** для поддержания роста необходима вода; в то же время от быстроты остановки ростовых процессов часто зависит выживание растения. На ранних этапах засухи главная роль принадлежит стремительному повышению содержания ингибиторов роста (даже в нормальных условиях срочные реакции закрывания устьиц осуществляются за счет ускоренного увеличения АБК).

Содержание гормона в среднем увеличивается на порядок со скоростью 0,15 мкг/г сырой массы в час. Закрывание устьиц уменьшает потери воды. Абсцизовая кислота способствует запасанию гидратной воды в клетке, т. к. активирует синтез пролина, а он увеличивает водненность белков в клетке в экстремальных условиях, тормозит синтез РНК и белков, накапливаясь в корнях, задерживает синтез цитокинина. Следовательно, АБК уменьшает потери воды через устьица, способствует запасанию гидратной воды белками и переводит обмен веществ клетки в режим «покоя».

В условиях стресса отмечается значительное выделение этилена. Увеличивается активность синтетазы, катализирующей ключевую реакцию биосинтеза этилена. Обнаруживается накопление ингибиторов роста фенольной природы (хлорогеновая кислота, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты). Накопление ингибиторов наблюдается у мезофитов.

Снижение содержания фитогормонов-активаторов (ИУК) происходит вслед за остановкой роста. Уменьшение содержания ауксина может быть связано с низким содержанием триптофана (предшественника ауксина) и подавлением транспорта ИУК по растению.

Пути повышения устойчивости растений

Отбор и разведение организмов, устойчивых к экстремальным факторам. Селекция. Скрещивание существующих растений не исчерпывает всех потенциальных возможностей получения новых сортов геномов.

При генной инженерии необходимо найти комплекс генов, отвечающих за ту или иную устойчивость. Для экспериментов по трансформации растительной клетки наиболее подходящий объект - протопласты. Получены протопласты из листьев картофеля, из которых в результате регенерации сначала вновь образуются клетки, а затем каллусы и целые растения; проводится отбор вариантов, наиболее устойчивых к неблагоприятным воздействиям и болезням.

В этих условиях клетка производит избыточное количество нормального метаболита. Если эту клетку выращивать в культуре, она даст начало растению, продукирующему желаемый метаболит в достаточных количествах.

Засухоустойчивость сельскохозяйственных растений можно повысить в результате предпосевного закаливания. Адаптация к обезвоживанию происходит в семенах, повторно высушиваемых перед посевом (после однократного намачивания). Растениям, выращенным из таких семян, характерны морфологические ксероморфные признаки, коррелирующие с их большей засухоустойчивостью.

Холодостойкость растений можно усилить также предпосевным закаливанием семян. В течение нескольких суток наклонувшиеся семена выдерживают при чередующихся условиях низких положительных и более высоких температур. Так же можно закалять рассаду. Устойчивость можно повысить путем замачивания семян в 0,25%-ных растворах микроэлементов или нитрата аммония.

Внесение в почву микроэлементов улучшает ионный обмен растений в условиях засоления. Солеустойчивость повышается благодаря применению предпосевного закаливания, заключающегося в обработке семян раствором NaCl с последующим промыванием водой (при хлоридном засолении).

Одним из способов, повышающих устойчивость растений к недостатку

кислорода, является их обработка и замачивание семян в растворах хлорхолинхлорида. Повысить устойчивость можно путем предпосевного замачивания семян в 0,001-0,0001%-ном растворе **Контрольные вопросы**. Другой способ - подкормка растений нитратами. Газоустойчивость повышается при оптимизации минерального питания и закалке семенного материала.

Растения обладают способностью противостоять действию неблагоприятных факторов среды. Защита от них обеспечивается на клеточном, органном (анатомические приспособления, специальные органы защиты, физиологические реакции, выработка защитных веществ), организменном и популяционном уровнях.

Л-17 Жизнь древесных растений в крупном городе

Основные вопросы

Введение

Особая среда создается для растений в поселениях человека и прежде всего в городах. В связи с ростом урбанизации (по прогнозам футурологов в начале следующего столетия 2/3 населения планеты будут жить в городах) повседневное «зеленое» окружение человека все больше составляют городские растения.

Растительность на улицах городов (главным образом, древесная) обычно рассматривается, прежде всего, с точки зрения улучшения городской среды для человека как в гигиеническом отношении (улавливание пыли, снижение шума, улучшение микроклимата и т. д.), так и в эстетическом. Чтобы успешно выращивать растения в городе и в полной мере использовать их полезные влияния, необходимо хорошо знать те особые и во многом необычные условия, которые представляет для растений городская среда, иными словами -- взглянуть на нее «глазами растения».

I. Экологические факторы

Основные экологические факторы в городах существенно отличаются от тех, которые влияют на растения в естественной обстановке. Чаще всего обращают внимание на особенности воздушной среды (загрязнение, запыленность), наиболее ощутимо воспринимаемой человеком. Но и другие факторы в городских условиях сильно видоизменены.

Световой режим характеризуется значительным снижением прихода солнечной радиации из-за запыления и задымленности воздуха. Другой пример: средняя освещенность в декабре в пригороде Ленинграда Павловске составляет около 5 клк, в Ленинграде --2 клк. В городах с многоэтажной и тесной застройкой многие растения оказываются в условиях прямого затенения или испытывают значительное сокращение светового дня. Несомненно, изменяется и качественный (спектральный) состав света. К числу особенностей светового режима для растений в городе следует добавить и такой своеобразный фактор, как вечернее и утреннее освещение уличными фонарями: хотя его интенсивность может быть и недостаточна для влияния на процессы фотосинтеза, но, возможно, сказывается на фотопериодических явлениях.

Тепловой режим городских растений определяется весьма сложным и специфическим микроклиматом города, которому посвящены особые главы в курсах климатологии. Для растений весьма существенны такие его особенности, как дневное нагревание асфальта и каменных стен домов, а ночью -- усиленное тепловое излучение от них. Это делает города более теплыми местами обитания для растений по сравнению с естественным зональным фоном, а в отдельные периоды вегетационного сезона нагревание растений может достигать опасных пределов.

Водный режим растений в городах характеризуется ограниченным поступлением воды в почву из-за асфальтовых покрытий (хотя нередко в черте города осадков выпадает больше, чем в пригородах). Большая часть влаги атмосферных осадков теряется для растений, поступая в канализационную систему. Частично поступление воды восполняется путем регулируемых поливов.

По оценке некоторых авторов, климатические факторы для растений в городах (особенно в областях с континентальным климатом) нередко приближаются к условиям полупустынь и пустынь, температура воздуха в жаркие летние дни может снижаться до 20–22%, т. е. создаются условия атмосферной засухи.

Почвенные факторы в городских условиях весьма своеобразны. Ежегодная уборка и сжигание листвы в гигиенических целях означают для растений отсутствие возврата питательных веществ в почву. Наблюдения показали, что при ежегодном сборе подстилки в парках в течение 20 лет прирост древесины уменьшается на 40–50%. Кроме того, удаление подстилки в 2–4 раза увеличивает глубину промерзания почвы. В городских посадках использование насыпных почв, строительного мусора и т. д. ухудшает качество почвы, кроме того, недостаточная мощность почвенных горизонтов, ограничение площади питания, растений при посадках в лунки и при асфальтовом покрытии делают невозможным нормальное развитие корневых систем. На городских улицах крупные древесные растения (например, липа), по существу, растут в условиях кадочной культуры, поскольку основная масса их корней не идет глубже 50–60 см. Наконец, небезразличны для растений и такие особенности городских почв, как плохая аэрация их под асфальтом, ослабление деятельности микроорганизмов, просачивание в почву солевого раствора с дорожных покрытий.

Городские растения испытывают и ряд других необычных влияний. Так, периодическая подрезка и стрижка деревьев и кустарников приводит к весьма существенной трансформации ассимиляционного аппарата, к изменению соотношения фотосинтезирующих и нефотосинтезирующих частей растения, что не может не отразиться на его жизнедеятельности и продуктивности (особенно это заметно у старых деревьев с большой массой стволов и крупных ветвей). Обрезка корней при посадке и пересадке нарушает их всасывающую деятельность. Древесные породы, для которых естественно произрастание в сомкнутых ценозах, на городских улицах, в скверах и парках растут изолированно. Это увеличивает опасность перегрева листовой поверхности, потерю воды путем транспирации, значительно возрастает доля листьев световой структуры даже в глубине кроны, т. е. структура и жизнедеятельность лесного дерева, оказавшегося на открытом местообитании, перестраиваются.

Продолжительность жизни деревьев в городе меньше, чем в лесу: деревья начинают отмирать в 40–50 лет, т. е. как раз в том возрасте, когда они дают наибольший декоративный и средообразующий эффект (см. табл. 1).

Таблица 1

Предельный возраст древесных пород в Москве и Подмосковье

Вид	Лес	Парк	Улица
Липа мелколистная	300–400	125–150	50–80
Ясень обыкновенный	250–300	60–80	40–50
Вяз	350–400	100–120	40–50

Старые деревья, включаемые в городскую застройку, тоже нередко вскоре отмирают, оказываясь своеобразными фитоиндикаторами изменения среды при урбанизации. Однако есть немало примеров и большого долголетия городских деревьев (вековые дубы, каштаны, липы и другие породы на улицах Киева, Львова, в парках и пригородах Москвы, Ленинграда, Риги и др.).

Среди разнообразных косвенных влияний человека на растительный покров упомянем еще изменение ареалов растений, связанное с перемещением их человеком. Акклиматизации желательных и полезных видов часто сопутствует бессознательный перенос засадок растений с посевным материалом, с транспортом, на одежду, на различных упаковках и т. д., даже с передвижениями войск во время войн. Растения, распространяемые при непроизвольном участии человека, называют антропохорными. У многих из них есть ряд приспособлений для переноса семян – от морфологических черт, обеспечивающих цепкость и «липучесть» семян, до имитации внешнего вида семян засоряемой культуры. Широкому расселению антропохорных видов способствует их конкурентоспособность и

«агрессивность» -- способность к быстрому завоеванию территории благодаря большой семенной продуктивности и вынос-ливости. Известны примеры широко распространенных антропохор-ных **растений**, таких как амброзия полыннолистная -- *Ambrosia artemisiifolia*, завезенная в нашу страну в прошлом веке из Северной Америки с посевным материалом, водные растения -- водяная чума -- *Elodea canadensis* и *Eichhornia crassipes*, широко расселившиеся по водоемам, и др. Проникновение семян с желез-нодорожным транспортом и грузами способствовало формированию вдоль насыпей так называемой железнодорожной флоры, среди которой можно встретить как типичные антропохорные сорняки, так и виды дикой флоры из иных районов (например, в Ленинградской области -- полыни и другие степные ксерофиты).

К числу новых местообитаний, не свойственных естественной природе, принадлежат рудеральные (мусорные), сопутствующие поселениям человека (близ жилищ, под заборами, на окраинах и свалках вдоль дорог). Они отличаются нарушением структуры почвы, повышенным содержанием в ней органических остатков, азота и нередко посторонних примесей. На таких местообитаниях поселяется особая рудеральная флора, среди которой много нитрофильных видов. Это лопухи -- *Arctium lappa*, *A. tomentosum*, кра-пива двудомная -- *Urtica dioica*, чистотел большой -- *Chelidonium majus*, дурман обыкновенный -- *Datura stramonium*, пустырник обыкновенный -- *Leonurus cardiaca*, белена черная -- *Hyoscyamus niger* и др. Большой частью это довольно крупные высокорослые растения, снабженные различными антропохорными и защитными приспособлениями; некоторые из них ядовиты. Среди придорожных видов, напротив, встречаются приземистые, хорошо выносящие вытаптывание, например подорожники или птичья гречишница (*Polygonum aviculare*), сплошным ковром покрывающая деревенские улицы.

Создание человеком культурных посевов и посадок означает возникновение новых форм растительного покрова со специфическими условиями для жизни растений и взаимоотношениями компонентов (в частности, невозможностью возобновления без помощи человека). Эти агроценозы изучают сельскохозяйственная экология, агрофитоценология и собственно агрономия.

II. Растения в городе

В современных условиях крупного города очищающая роль растений не так уж велика: они сами по себе не в состоянии обеспечить нас тем количеством кислорода, в котором мы нуждаемся. На первое место выходит декоративная, эстетическая роль зеленых насаждений, художественный уровень искусственных посадок.

Зеленые насаждения могут иметь как самостоятельное значение (лесопарки, парки, городские сады), так и входить в структуру застройки города в качестве ее органического компонента (районные сады, скверы, бульвары, уличные насаждения, внутривартальные насаждения). С помощью городских зеленых насаждений разного типа вносятся элементы природы в город, сохраняется связь человека с природой, обогащаются городские ландшафты.

Городские зеленые насаждения служат мощным средством индивидуализации отдельных районов и микрорайонов города. С их помощью можно преодолеть монотонность городской застройки, вызванной индустриальными методами строительства и применением типовых проектов. Сочетание зеленых насаждений с городской застройкой особенно эффективно, когда зеленые насаждения входят вглубь застройки, поддерживая ее композицию и декорируя неинтересные поверхности и сооружения. Огромная роль принадлежит зеленым насаждениям в решении проблемы организации отдыха городского населения.

Особое место занимают зеленые насаждения промышленных предприятий, больниц, учебных заведений и т.д. Организация отдыха в зеленых зонах данных объектов определяется спецификой каждого из них.

Во флоре любого города можно найти местные по происхождению виды и виды, попавшие на данную территорию из других областей земного шара. Привнесенные виды

могут быть как культурными, так и сорными. Распространение пришлых видов может вестись стихийно или сознательно. Число пришлых видов в городах очень велико. Доля их в городской флоре может доходить до 70%. Особенно на свалках и железных дорогах. Порой, они могут вести себя столь агрессивно, что вытесняют аборигенные виды. Большинство местных представителей исчезает из городской флоры уже при закладке городов. Им сложно акклиматизироваться в городе, так как новые условия местообитания непохожи на естественные. Установлено, что из сохранившихся местных видов обычно мало лесных, преобладают луговые и степные виды. Среди пришлых видов больше выходцев из южных регионов.

Ведущее место в озеленении городов умеренного пояса занимают лиственные породы, хвойные практически не представлены. Это объясняется слабой устойчивостью этих пород к загрязненной среде города. Вообще видовой состав городских насаждений очень ограничен. Например, в Москве для озеленения города используются в основном 15 древесных видов, в Санкт-Петербурге - 18 видов. Преобладающими являются широколиственные деревья - липа, в том числе мелколистная, клен остролистный, тополь бальзамический, ясень пенсильванский, вяз гладкий, из мелколиственных - береза повислая. Доля участия других видов меньше 1%. На улицах города можно увидеть такие виды, как вяз шершавый, дуб черешчатый, сосна обыкновенная, клен американский, каштан конский, тополь разных видов (берлинский, канадский, черный, китайский), липа крупнолистная, ель обыкновенная, лиственница европейская и др.

Общая продолжительность жизни городских растений существенно меньше, чем естественных. Так, если в подмосковных лесах липа доживает до 300-400 лет, то в московских парках - до 125-150 лет, а на улицах - всего до 50-80 лет. Также отличаются и сроки вегетации.

Особенности городской среды сказываются на ходе жизненных процессов растений, флоры, их внешнем виде и строении органов. Например, у городских деревьев снижена фотосинтетическая активность, поэтому они имеют более редкую крону, мелкие листья, короче побеги.

Городские деревья чрезвычайно ослаблены. Поэтому они представляют собой прекрасные места для развития вредителей и всевозможных болезней. Это еще больше усугубляет их ослабление, а иногда является причиной преждевременной гибели. Основными вредителями являются насекомые и клещи, такие как моли, тли, пильщики, листоеды, листоблошки, растительноядные клещи и др. Только в Москве зафиксировано около 290 видов различных вредителей. При этом наиболее опасными являются непарный шелкопряд, лиственичная чехликовая моль, липовая моль-пестрянка, калиновый листоед и т.д. Сейчас растет количество деревьев, пораженных ильмовым заболонником. Также многие зеленые насаждения страдают от короеда-тиографа, активно размножающегося в последние годы.

Обращает на себя внимание, что в условиях города листья многих растений, подсыхают по краям, на них появляются бурые пятна различной величины и формы, иногда проявляется белый, мучнистый налет. Подобные симптомы говорят о развитии всевозможных заболеваний (сосудистых, некрозно-раковых, гнилевых и др.). В Москве выявлено широкое распространение гнилевых болезней, что сказывается на качестве зеленых насаждений города. Особенно это заметно в районах новой застройки, массового отдыха и свалок.

Деревья в городе подвержены сильным стрессам. Можно выделить следующие основные факторы, оказывающие негативное влияние на состояние городских насаждений:

- 1 - экологические условия города
- 2 - нарушение технологии посадки
- 3 - неудовлетворительное состояние почвы
- 4 - повреждение вредителями и болезнями
- 5 - случайные факторы (вандализм, механические повреждения).

Под воздействием всех этих факторов у растений снижается жизнеспособность и падает эстетическая и санитарно-гигиеническая роль.

По мере увеличения количества древесных растений ослабевают их естественные защитные механизмы и падает их биологическая устойчивость, снижаются возможности противодействия антропогенным факторам, падает устойчивость к засухам, морозам и ветрам и к гнилевым болезням. Поэтому необходимо дифференцировано подходить к срокам омоложения насаждений на территории города. Совершенно напрасно граждане пишут жалобные письма, выставляют пикеты, чтобы ни в коем случае не дать вырубить какие-то деревья в их дворе или какой-то очень старинный сад, зараженный, между прочим, патогенными микроорганизмами. В Москве слишком много больной, ненужной и даже вредной зелени, уничтожить которую не только можно, но и просто необходимо именно из любви к природе и людям. Разросшиеся деревья около фасадов домов загораживают солнечный свет, нарушая естественную освещенность квартир, в которых даже в солнечные дни темно и сырь. Больные растения заражают здоровые, не радуют глаз, а скорее огорчают его своим чахлым видом. Неправильно посаженные деревья часто не снижают шума от автотранспорта, а усиливают его. Словом не выполняют все те функции растений, из-за которых они и высаживаются в городе. И ратуя за формальную массу растений, мы становимся заложниками своих собственных заблуждений и засевшего в мозгах стереотипного представления о зеленом городе.

Для того чтобы повысить качество озеленения в городах, вводят различные нормы и правила, устанавливающие минимальные требования, которые необходимо соблюдать при проведении озеленительных работ. В последнее время в Москве вышел целый ряд постановлений и законов правительства Москвы, направленных на создание и поддержание зеленых насаждений. Вот только некоторые из них. В 1999 году принят Закон города Москвы "О защите зеленых насаждений", в 2001 году принято постановление о порядке проведения компенсационного озеленения. В 2002 г. утверждены нормы и правила проектирования комплексного благоустройства на территории города Москвы, а также правила создания, содержания и охраны зеленых насаждений города Москвы.

Посадка древесных и кустарниковых растений осуществляется не произвольно, а в виде растительных группировок. Согласно действующим нормативам, в городе можно высаживать только здоровые растения, без всяких повреждений с нормально развитой, предпочтительнее закрытой, корневой системой. Чтобы увеличить долговечность и качество зеленых насаждений, при посадке необходимо использовать современные агротехнологии, грамотно подбирать виды, максимально учитывать влияние экологических факторов, сажать растения на оздоровленную почву, всячески стараться повысить устойчивость растения и т.д., а потом на протяжении всей жизни растений необходимо за ними ухаживать.

Не менее значима в создании озелененных территорий и газонная растительность. Ее роль часто недооценивают. Однако, по своему воздухоочистительному потенциалу 4 м² газона сопоставимы с одним деревом. Также она представляет собой своеобразный водный фильтр, задерживая взвешенные вещества, поступающие со стоком. Слоны, засаженные травяной растительностью, понижают уровень шума от железнодорожного транспорта на 8-10дБ. Поэтому создание и поддержание газонной растительности является очень важным вопросом на сегодняшний день. Тем более, что около трети территорий общего пользования вообще лишены газонной растительности. Это приводит к резкому запылению оголенных поверхностей, уменьшает количество получаемого кислорода, увеличивает уровень шумового загрязнения и загрязнения водоемов.

Заключение

Таким образом, неблагоприятные особенности городской среды заметно изменяют состояние растений и отражаются как на отдельных физиологических и морфологических показателях, так и на общем облике растения, его долголетии, сопротивляемости неблагоприятным воздействиям. Например, у клена при уплотнении почвы в городских посадках обнаружено снижение транспирации почти вдвое, уменьшающее содержания

продуктов фотосинтеза в листьях. По мере накопления токсикантов у древесных пород падает количество нуклеиновых кислот в листьях, нарушается обмен азотистых соединений.

В современной природе загрязнение неспецифическая и во многом неблагоприятная для жизнедеятельности человека экологическая обстановка.

Ее отличительными особенностями являются повышенное содержание атмосферных загрязнений, более резкие колебания температурного и радиационного режимов, наличие шума и вибраций разного рода и т.д.

В условиях увеличения техногенных нагрузок санитарно-гигиеническая роль покрытых растительностью пространств города является мощным средством нейтрализации вредных последствий техногенного загрязнения для городского населения. Природные, озелененные территории, а также акватории, влияют на микроклиматические характеристики городской среды, в том числе задерживают десятки тонн пыли, концентрируют в листьях тяжелые металлы, участвуют в формировании температурно-влажностных режимов, химического состава воздуха: биотрансформируют и рассеивают сотни тысячи тонн загрязняющих веществ, обогащают воздух кислородом. Они оказывают воздействие на скорость движения воздушных потоков, уровень инсоляции поверхностей на уровне земли, зданий и сооружений, а также снижают шумовую нагрузку от автомобилей и других источников.

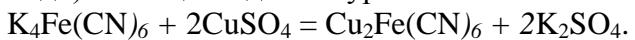
2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

Работа 1. Получение искусственной «клеточки Траубе»

Материалы и оборудование: раствор медного купороса (V_2 н), растворы желтой кровяной соли ($K_4Fe(CN)_6$) различной концентрации (V_{16} н, V_8 н, V_4 н, V_2 н, 1 н), сосуд с плоскопараллельными стенками, пробирка или высокий цилиндр, пипетка.

Вводные пояснения. Избирательное проникновение веществ через цитоплазматическую мембрану клетки называется полупроницаемостью. Наиболее легко через мембрану проникает вода, и ее движение направлено из раствора меньшей концентрации в раствор большей концентрации. Свойство полупроницаемости коррелирует с осмотическими свойствами и лежит в основе механизма поступления воды в растительную клетку.

Ход работы. В сосуд наливают раствор медного купороса ($1/2$ н). Осторожно маленькой пипеткой вводят по стенке сосуда концентрированный (1 н) раствор желтой кровяной соли. Капелька желтой кровяной соли в растворе медного купороса быстро образует на своей поверхности полупроницаемую пленку красной кровяной соли (железисто-синеродистая медь). Реакция идет по уравнению:



Эта пленка проницаема для воды, но не проницаема для солей. Таким образом, в медном купоросе капля желтой кровяной соли, окруженная полупроницаемой пленкой, является осмотической системой.

Концентрация раствора медного купороса снаружи пленки ниже, чем концентрация желтой кровяной соли внутри нее. Вследствие этого вода начнет поступать внутрь образованной «клеточки».

Искусственная «клетка» будет увеличиваться в объеме, и раствор около нее станет более концентрированным благодаря отнятию от него воды. При увеличении искусственной клеточки в объеме наблюдают, как рвется ее оболочка и на месте соприкосновения раствора желтой кровяной соли с медным купоросом вновь образуется полупроницаемая пленка. Рост «клеточки» будет продолжаться до тех пор, пока концентрации солей по обе стороны полупроницаемой пленки не сравняются. Если концентрация желтой кровяной соли берется меньше, чем концентрация медного купороса (например, $1/8$ или $1/16$ н), можно видеть, что искусственная «клеточка» в этом случае уменьшается в объеме и сморщивается. Окружающий «клетку» раствор медного

купороса будет отнимать от нее воду и, становясь менее концентрированным и более легким, начнет струйками подниматься вверх.

При концентрации **соля** соли, изотоничной $\frac{1}{2}$ н раствору медного купороса, «клетка» изменяться в объеме не будет и в этом случае никаких струек в растворе медного купороса заметить нельзя.

Наблюдения за каплей легче проводить, просматривая раствор снизу вверх.

Результаты наблюдений записывают в таблицу.

Таблица 1- Изменение объема «клеточки Траубе» при изменении соотношения концентраций внутреннего и внешнего растворов

Концентрация раствора желтой кровяной соли	1 н	$\frac{1}{2}$ н	$\frac{1}{4}$ н	$\frac{1}{8}$ н	$\frac{1}{16}$ н
Изменения объема искусственной клетки					

По окончании работы записывают выводы.

Контрольные вопросы:

- 4) Что называется полупроницаемостью?
- 5) Какие изменения наблюдаются в клетке при помещении ее в гипотонический раствор?
- 6) Что происходит с клеткой в гипертоническом растворе?
- 7) Объясните поведение клетки в изотоническом растворе.

Работа 2. Плазмолиз и деплазмолиз растительной клетки

Материалы и оборудование: лук красный, 1 М раствор KNO_3 , стеклянная палочка, препаровальная игла, лезвие бритвы, микроскоп, фильтровальная бумага, предметное и покровное стекла, стакан с водой, пинцет.

Вводные пояснения. Растительная клетка представляет собой осмотическую систему, в которой протопласт играет роль полупроницаемой оболочки, а осмотически деятельным раствором является клеточный сок. Если внешний раствор будет более концентрированным, чем раствор внутри клетки, то вода будет выходить из клетки. При рассмотрении таких клеток под микроскопом можно наблюдать отставание протоплазмы от оболочки клетки. Это явление известно под названием плазмолиза. Пространство, образующееся между протопластом и клеточной стенкой, заполняется внешним раствором. При использовании объектов с наличием антоциана (красящего пигмента) происходит постепенное увеличение его концентрации вследствие потери большого количества воды клеточным соком в процессе плазмолитического сокращения протопласта, и красная окраска клеточного сока становится темнее, чем у неплазмолизированных.

После замены плазмолитика водой клеточный сок заполняет весь объем клетки, протоплазма прижимается к ее стенкам.

Состояние полного насыщения клетки водой называется тургором. При медленно наступающем деплазмолизе клетки остаются живыми. Если деплазмолиз проходит быстро, то протопласти механически разрушаются, клетки отмирают, а пигменты при этом вымываются и среды обесцвечиваются.

Ход работы. Кусочек эпидермиса с вогнутой стороны чешуи лука помещают в каплю воды на предметное стекло. Изготовленный таким образом препарат покрывают покровным стеклом и рассматривают в микроскоп при малом увеличении, чтобы убедиться в тургорном состоянии клеток среза. Все клетки в этом случае будут иметь равномерную окраску от антоциана. Затем с одной стороны покровного стекла помещают каплю раствора азотнокислого калия (1 М), а с противоположной стороны, не сдвигая препарата, начинают отсасывать воду кусочками фильтровальной бумаги. Все время необходимо следить за тем, что происходит в клетках эпидермиса лука.

Записывают результаты наблюдения, делают вывод.

Контрольные вопросы:

3. Что такое плазмолиз и какие его причины?
4. Как происходит деплазмолиз?
5. Способны ли плазмолизироваться мертвые клетки?

Влияние анионов и катионов солей на форму и время плазмолиза

Материалы и оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла, бритвы, лук красный, растворы: 0,7М $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 1М KNO_3 , 1М KCNS .

Вводные пояснения. Протоплазма обладает в большей или меньшей степени жидкой консистенцией и поэтому, повинуясь силам поверхностного натяжения, стремится принять при плазмолизе сферическую форму. Плазмолиз, при котором протопласт имеет округлую форму, называется выпуклым плазмолизом. В изодиаметрических клетках паренхимы протопласт остается при плазмолизировании целым. В сильно вытянутых клетках он часто распадается в процессе плазмолизирования на части, которые в большинстве случаев остаются соединенным друг с другом тонкими плазматическими нитями. Такой плазмолиз также можно назвать выпуклым.

Если, наоборот, связь пограничного слоя плазмы с оболочкой или вязкость цитоплазмы очень велики, то протопласт при плазмолизе повинуется силам поверхностного натяжения очень медленно или совсем им не повинуется. Плазмолиз получается в том случае не выпуклым, а с преобладанием вогнутых форм - вогнутый плазмолиз. Если вогнутый плазмолиз выражен чрезмерно, то говорят о судорожном плазмолизе. Наличие длительного судорожного плазмолиза всегда указывает на очень сильную связь протопласта с оболочкой и на высокую степень вязкости цитоплазмы. У некоторых клеток, кроме выпуклого и вогнутого плазмолиза, можно наблюдать еще уголковое отделение протопласта. Эта форма плазмолиза называется уголковой.

Возникающие формы плазмолиза неустойчивы. Почти при каждом плазмолизе отделение протопласта начинается с вогнутой формы, которая в дальнейшем ходе сокращения стремится перейти в выпуклую.

Катионы и анионы солей оказывают специфическое и многообразное действие на цитоплазму. Одним из заметных внешних проявлений этого действия являются изменения в степени набухания и вязкости цитоплазмы, для оценки которых используют время плазмолиза.

Временем плазмолиза называется период, который проходит с момента погружения в раствор плазмолитика ткани растения до наступления выпуклого плазмолиза. Этот показатель может характеризовать вязкость цитоплазмы: чем больше время наступления выпуклого плазмолиза, тем выше вязкость цитоплазмы.

Можно показать противоположное действие одновалентных и двухвалентных ионов металлов. Так, кальций, являющийся одним из наиболее жизненно важных металлов, вызывает уплотнение и обезвоживание, тогда как калий - набухание и разжижение. Если расположить соли одного щелочного металла, но с различными анионами, то получится следующий хорошо известный в коллоидной химии лиотропный ряд анионов: цитрат - тартрат - сульфат - ацетат - хлорид - нитрат - иодид - роданид. Такие ряды при действии солей можно наблюдать и на живых объектах. Цитрат вызывает наименьшее набухание, роданид способствует сильному набуханию.

Ход работы. Кусочек эпидермиса с вогнутой поверхности чешуи красного лука помещают в каплю раствора испытуемой соли, накрывают покровным стеклом и тут же приступают к просматриванию под микроскопом. Необходимо проследить за сменой форм плазмолиза: начальной, вогнутой и выпуклой. Определяют время плазмолиза в каждой соли. Результаты записывают в таблицу.

Таблица 2- Влияние катионов и анионов солей на время плазмолиза протопласта

Вариант	Соль	Концентрация раствора, М	Время погружения ткани в раствор	Время наступления выпуклого плазмолиза	Время плазмолиза, мин.
1	Ca(NO ₃) ₂	0,7			
2	KNO ₃	1,0			
3	KCNS	1,0			

На основании полученных результатов делают выводы о влиянии катионов и анионов на вязкость цитоплазмы.

Контрольные вопросы:

4. Какие формы плазмолиза различают? Чем характеризуется каждая форма?
5. Как связана форма плазмолиза с вязкостью цитоплазмы?
6. В чем выражается действие анионов и катионов на цитоплазму?
7. Что называют временем плазмолиза?
8. Как связано время плазмолиза с вязкостью цитоплазмы?

Раздел 2

ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ

Вода является основным компонентом живого, составляя, в среднем, 70-80% массы растения. Содержание воды зависит от вида и возраста растения. Так, сочные плоды содержат ее 80-95%, молодые корни - 70-90%, молодые листья - 80-90%, сырая древесина - около 50%. Наиболее бедны водой семена, содержащие ее в воздушно-сухом состоянии от 5 до 15%.

Роль воды в организме очень многообразна. Вода - это структурообразователь протоплазмы, где молекулы белков, нуклеиновых кислот, мембранные могут сохранять свою структуру и функциональную активность только при наличии водородных связей с водным матриксом. Вода - это растворитель разнообразных веществ, обеспечивает их транспорт по растению и связь органов друг с другом. Вода - активный участник биохимических превращений, стабилизирует температуру растения, поддерживает тургесцентное состояние. Все это придает воде в жизни растений исключительную роль, в связи с чем водный режим растений является одним из основных разделов физиологии растений.

Работа 3. Определение содержания воды в растительном материале

Материалы и оборудование. Пятнадцатидневные растения подсолнечника или кукурузы, технические весы, сушильный шкаф, бюксы, эксикатор, щипцы.

Вводные пояснения. Одним из важных показателей водного режима является степень оводненности тканей. С содержанием воды связаны концентрация клеточного сока, водный потенциал органов растений, отношение его к почвенной и атмосферной засухе.

Различные по засухоустойчивости растения различаются характером водного обмена. Влаголюбивые растения содержат много воды при достаточном количестве ее в почве, однако они быстро теряют ее при понижении влажности почвы. У засухоустойчивых форм содержание влаги в растениях, как правило, ниже, но ее количество более устойчиво.

Ход работы. Количество воды в растительных объектах определяют весовым методом. Каждое определение выполняют в трехкратной повторности при навеске растительного материала не менее 5 г. Бюксы предварительно просушивают до постоянного веса и взвешивают.

При определении количества воды в овощах, картофеле и плодах от каждой

пробы отрезают тонкие кусочки однородной ткани и укладывают их в бюксы. Бюксы с материалом взвешивают на технических весах с точностью до 0,01 г. Бюксы при этом должны быть закрыты. **Контрольные вопросы:** взвешивания у бюксов открывают крышки и бюксы помещают в сушильный шкаф, нагретый до 100-105°С. Высушивание проводят до постоянной массы. Постоянная масса устанавливается периодическим взвешиванием. Перед взвешиванием вынутые из сушильного шкафа бюксы предварительно охлаждают в эксикаторе. Расчет содержания воды проводят по формуле:

$$x = \frac{100(A - B)}{A},$$

где A - масса навески до высушивания, г,
 B - масса навески после высушивания, г.

Чтобы найти массу навески, нужно из массы бюкса вместе с навеской вычесть первоначальную массу пустого бюкса.

При определении воды в вегетативных частях растений (листья, стебли или корни) их измельчают ножницами или секатором. При определении воды в семенах их предварительно размалывают. Взвешивание размолотых семян проводят на аналитических весах.

Данные наблюдений записывают в таблицу и делают выводы.

Таблица 10 - Расчет влажности растительного материала

Вариант	Повторность	Номер бюкса	Масса пустого бюкса, г	Масса бюкса с материалом, г		Масса сухого материала, г	Влажность, %
				до сушки	после сушки		

Контрольные вопросы:

1. Каково среднее содержание воды в растительных организмах?
2. В чем значение свойств воды для биологических процессов?
3. В чем заключается связь между интенсивностью и направленностью физиологических процессов и оводненностью растительных тканей?

Работа 4. Определение интенсивности транспирации и относительной транспирации весовым методом

Материалы и оборудование: листья герани или других растений, технические весы, кристаллизатор, часы, колба на 100 мл с водой, вата, ножницы, миллиметровая бумага, карандаш, резиновая пробка с отверстием.

Водные пояснения. Интенсивность транспирации - количество воды, испарившейся с единицы листовой поверхности в единицу времени. Зависит от внешних факторов, времени суток и колеблется в пределах от 15 до 250 г/м² • ч.

Весовой метод определения интенсивности транспирации основан на учете воды при испарении. Им можно изучать транспирацию целого растения или отдельных его частей. Чтобы во время опыта оводненность тканей не снижалась, нижнюю часть растения или черешок листа помещают в колбу, заполненную водой.

Относительная транспирация - отношение интенсивности транспирации к интенсивности испарения со свободной водной поверхности при тех же условиях. Характеризует способность растений регулировать транспирацию и обычно составляет

- 1 1 0,5, поднимается иногда до 1,0 и опускается у некоторых хорошо защищенных листьев до 0,01 и ниже.

Ход работы. Определение интенсивности транспирации проводят со срезанными листочками. Черешок листа плотно укрепляют ватой в отверстии резиновой пробки, а нижний конец черешка подрезают наискосок под водой примерно на 100 см для вос-

становления водных нитей в проводящих сосудах. Вставляют пробку с листом в горлышко стеклянной колбы с водой так, чтобы черешок листа был погружен в воду. Пробка не должна **испаряться**, и взвешенный таким образом прибор взвешивают на весах. Через час взвешивают повторно. По разнице с первоначальной массой устанавливают количество воды, которое испарил лист во время опыта. Единица измерения интенсивности транспирации - г воды на 1 м² листовой поверхности в час.

Для определения площади листа, взятого для опыта, можно использовать весовой метод. Берут лист бумаги площадью 100 см² (10-10 см) и взвешивают его. Затем на него накладывают исследуемый лист растения, тщательно обводят его контур, вырезают и взвешивают. Составляют пропорцию: если квадрат бумаги в 100 см² имеет массу A , а кусочек бумаги, вырезанный по контуру листа, площадью S - B г, то площадь листа

Интенсивность транспирации рассчитывают по формуле:

$$И_т = \frac{10000 C}{S T} \quad (2)$$

$$S = \frac{1006}{A} \quad (1)$$

где C - количество испарившейся воды за время опыта, г;

S - площадь листа, см²;

T - продолжительность опыта, ч.

Параллельно в тех же условиях определяют испарение со свободной водной поверхности, для чего учитывают количество воды, испарившейся за час с поверхности чашки Петри. Площадь ее определяют по формуле:

$$S = \pi r^2,$$

где r - радиус внутренней поверхности чашки Петри, а л«3,14.

Рассчитывают интенсивность испарения со свободной водной поверхности (Е) по формуле 2 и вычисляют величину относительной транспирации:

$$OT = \frac{И_т}{E} \quad (3)$$

Е

Результаты опыта записывают в таблицу. Делают выводы.

Таблица 11 - Расчет интенсивности транспирации и относительной транспирации растений

Вариант	Масса испарившейся воды, г	Площадь листа, см ²	Интенсивность транспирации, гм ² /ч	Площадь чашки Петри, см ²	Интенсивность испарения с водной поверхности, г м ² /ч	Относительная транспирация

Контрольные вопросы:

- Что такое транспирация и каково ее значение для растения?
- В чем состоит принцип весового метода определения интенсивности транспирации?
- Какие показатели используются для характеристики транспирации?

Работа 4. Определение интенсивности транспирации у срезанных листьев при помощи торзионных весов

Материалы и оборудование: десятидневные проростки пшеницы или ячменя, торзионные весы, ножницы, подставки для подвешивания листьев.

Вводные пояснения. Учет измерений массы срезанного транс- пирирующего листа за короткие промежутки времени дает возможность наблюдать транспирацию при том состоянии насыщения **Контрольные вопросы:** он находится на растении. Однако при этом интервал между взвешиваниями не должен превышать 5 минут. При более длительном интервале уменьшается содержание воды в листе и снижается интенсивность транспирации. Для работы используют торзионные весы, позволяющие производить взвешивание очень быстро и с большой точностью.

Ход работы. Срезают лист и подвешивают на коромысло весов. Быстро взвешивают лист и помещают на наколку. Таким образом взвешивают листья одного и того же яруса с десяти растений. Через 5 минут после взвешивания первого листа повторно взвешивают все листья в первоначальном порядке. Убыль в массе листьев между первым и вторым взвешиванием показывает количество испарившейся воды. Все расчеты выполняют по суммарной массе десяти листьев каждого варианта. Результаты записывают в таблицу.

Рассчитывают количество воды, испарившейся из 1 г сырых листьев за час, и делают выводы.

Таблица 12 - Расчет интенсивности транспирации листьев

Вариант	Суммарная масса десяти листьев, мг		Потеря воды десятью листьями, мг	Интенсивность транспирации, мг/г ч
	начальная	через 5 минут		

Контрольные вопросы:

1. Что лежит в основе метода определения интенсивности транспирации у срезанных листьев при помощи торзионных весов?
2. Каковы суточные колебания транспирации?
3. Каковы особенности листа как органа транспирации?

Раздел 3

ФОТОСИНТЕЗ

Процесс фотосинтеза является важнейшим процессом биосфера. Он - основной фактор сбалансированности биосферных процессов на Земле, включая постоянство содержания кислорода и углекислого газа в атмосфере, состояние озонового слоя, содержание гумуса в почве, парниковый эффект и т.д. Сущностью фотосинтеза является то, что на свету в зеленом растении из предельно окисленных веществ - CO_2 и H_2O - образуются органические вещества и выделяется молекулярный кислород. Поглощенная энергия света трансформируется в химическую энергию органических соединений.

Работа 5. Пигменты листа и их свойства

1. Получение спиртового раствора пигментов

Материалы и оборудование: свежие или сухие листья различных растений, ступка с пестиком, CaCO_3 , 96%-й этиловый спирт, кварцевый песок или толченое стекло, вазелин, стеклянная палочка, воронка, колбочка на 25 мл, бумажные фильтры.

Вводные пояснения. Пигментная система хлоропласта представлена двумя типами пигментов: зелеными - хлорофиллами и желтыми - каротиноидами.

Хлорофиллы представлены хлорофиллом *a* ($\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$ - зеленый с синеватым оттенком) и хлорофиллом *b* ($\text{C}_{54}\text{H}_{70}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$ - зеленый с желтоватым оттенком). Основным функциональным пигментом является хлорофилл *a*, являющийся непосредственным донором энергии для фотосинтезирующих реакций. Остальные пигменты лишь передают поглощенную ими энергию хлорофиллу *a*.

По химической природе хлорофиллы *a* и *b* - сложные эфиры, состоящие из дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов - метилового и фитола. Структурная основа молекулы хлорофилла - порфириновое ядро, образованное из четырех пиррольных

колец, в центре которого находится атом магния, удерживаемый в этом положении за счет связей с атомами азота. Азот придает ядру гидрофильный характер, фитол обладает гидрофобными свойствами. **Контрольные вопросы** отличается от хлорофилла *a* тем, что у него одна из метильных групп замещена на альдегидную.

Каротиноиды - соединения, которые можно рассматривать как производные изопрена. Их подразделяют на каротины и ксантофиллы. Каротины - непредельные углеводороды, химический состав которых можно выразить формулой $C_{40}H_{56}$. Наиболее распространенными из них являются ликопин, а-каротин, Р-каротин и у-каротин. У высших растений преобладает Р-каротин. Ксантофиллы - кислородосодержащие производные каротинов, химический состав которых выражается формулой $C_{40}H_{56}O_2$ или $C_{40}H_{56}O_4$, например, лютеин ($C_{40}H_{56}O_2$) и виолаксантин ($C_{40}H_{56}O_4$).

Для извлечения пигментов из растительной ткани обычно используют полярные растворители (этиловый спирт, ацетон), которые разрушают связь пигментов с липопротеидами пластид, обеспечивая их более полное экстрагирование.

Ход работы. Свежие или сухие листья измельчают, помещают в ступку, добавляют небольшое количество $CaCO_3$ для нейтрализации кислот клеточного сока, а также чистый кварцевый песок или толченое стекло. Затем добавляют спирт и продолжают растирать до получения однородной темно-зеленой массы. Носик ступки с наружной стороны смазывают вазелином и по стеклянной палочке осторожно сливают вытяжку через воронку с фильтром в колбочку на 25 мл.

2. Разделение пигментов по Краусу

Материалы и оборудование: спиртовой раствор пигментов листа, бензин, пробирка, вода, пипетка, мерная пипетка на 5-10 мл.

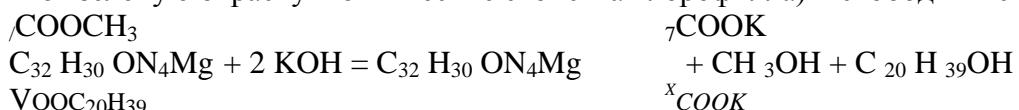
Вводные пояснения. Разделение пигментов основано на их различной растворимости в полярных и неполярных растворителях, например, в спирте и бензине. Эти растворители не смешиваются, образуя два слоя - верхний, бензиновый, и нижний, спиртовой.

Ход работы. В пробирку наливают 2-3 мл спиртовой вытяжки пигментов, добавляют 3-4 мл бензина и 2-3 капли воды (чтобы спирт не смешивался с бензином). Содержимое пробирки энергично встряхивают, а затем дают ему отстояться. Определяют, какие пигменты лучше растворяются в спирте, а какие - в бензине. Зарисовывают окраску слоев, указав разделение пигментов.

3. Действие щелочи на хлорофилл

Материалы и оборудование: спиртовой раствор пигментов листа, бензин, 20% спиртовой раствор KOH , спиртовка, вода, пробирка, мерная пипетка на 5-10 мл.

Вводные пояснения. Хлорофилл - сложный эфир дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов - метилового (CH_3OH) и фитола ($C_{20}H_{39}OH$). При действии щелочью эфирные связи омыляются с образованием соли хлорофиллиновой кислоты (сохраняют зеленую окраску и оптические свойства хлорофилла) и свободных спиртов:



Ход работы. К 1 мл спиртового раствора пигментов добавляют 0,5 мл спиртовой щелочи и нагревают до кипения 2-3 раза. К охлажденному раствору добавляют 0,5 мл воды и равный объем бензина, взбалтывают, а затем дают отстояться. Получается разделение пигментов, обратное методу Крауса. Указывают распределение пигментов и продуктов омыления, учитывая, что каротиноиды с щелочью не реагируют.

4. Действие кислоты на хлорофилл

Материалы и оборудование: спиртовой раствор пигментов листа, 10% раствор HCl , пипетка, пробирки в штативе (2 шт), $(CH_3COO)_2P$, спиртовка, мерная пипетка на 5-10 мл.

Вводные пояснения. Зеленый цвет хлорофилла связан с наличием в порфириновом

ядре атома магния, соединенного через атомы азота с четырьмя пиррольными кольцами. Атом магния сравнительно слабо удерживается в порфириновом ядре хлорофилла и при воздействии сильных кислот выходит из ядра двумя протонами с образованием соединения бурого цвета - феофитина.

При действии на феофитин солей меди или цинка происходит замещение протонов на соответствующий металл, с образованием соединений, имеющих зеленую окраску.

Ход работы. В две пробирки наливают по 2-3 мл спиртового раствора пигментов, а затем добавляют по 1-2 капли крепкой соляной кислоты. Содержимое пробирок энергично встряхивают, отмечают окраску раствора. Одну пробирку оставляют для контроля, а во вторую вносят небольшое количество уксуснокислого цинка и доводят до кипения. Отмечают изменение окраски, записывают уравнение реакции.

5. Спектры поглощения пигментов

Материалы и оборудование: спиртовой раствор пигментов листа, раствор каротина и ксантофилла (бензиновый слой, полученный после омыления хлорофилла), спектроскоп, настольная лампа, мерная пипетка на 5-10 мл, штатив с пробирками (7 шт).

Вводные пояснения. Одно из основных свойств хлорофилла - способность поглощать световую энергию видимой части спектра (от 380 до 720 нм), которая в дальнейшем превращается в химическую. Пигменты поглощают видимый свет не полностью, то есть каждый пигмент имеет свой характерный спектр поглощения. Минимум поглощения хлорофилла лежит в зоне зеленых лучей, чем и объясняется зеленая окраска, максимум в красной (660 и 640 нм) и сине-фиолетовой (430 и 450 нм) частях спектра. При этом в живом листе у хлорофиллов более широкий и выровненный спектр поглощения. Так, у хлорофилла а в красной части спектра имеется несколько пиков поглощения - 670, 683, 700, 710 нм, у хлорофилла Р - 650.... 655 нм. Все это обусловлено степенью агрегации молекул пигмента и характером их связи с липопротеиновым комплексом в ламелах тилакоидов.

Для установления спектра поглощения хлорофилла используют спектроскоп. Если пропустить белый свет через раствор хлорофилла, а затем разложить его при помощи призмы, то отдельные участки спектра будут выглядеть как темные полосы. Такой спектр называют спектром поглощения. Сопоставляя спектры поглощения растворов разной концентрации (или одного и того же раствора, но при разной толщине слоя), можно установить степень поглощения отдельных лучей: чем слабее поглощается данный участок спектра, тем концентрированнее нужно взять раствор, чтобы добиться исчезновения этого участка в спектре поглощения. Поглощаемые в наибольшей степени лучи можно определить по полосам в спектре поглощения очень разбавленного раствора.

Ход работы. Направляют спектроскоп на источник света и регулируют его так, чтобы спектр получился четкий и достаточно яркий. Наливают исследуемый раствор в пробирку, помещают ее перед щелью спектроскопа и определяют наличие темных полос, которые соответствуют лучам, поглощаемым хлорофиллом. Изучают спектры поглощения растворов хлорофилла разной концентрации, разбавляя спиртовой раствор в соотношениях 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5. Для сравнения рассматривают спектр каротина и ксантофилла (бензиновый слой, полученный после омыления хлорофилла).

Результаты заносят в таблицу и делают выводы.

Таблица 19 - Спектры поглощения хлорофилла

Разведение вытяжки	Часть спектра						
	Ф	С	Г	З	Ж	О	К
Исходный р-р 1 : 1 1 : 2 1 : 3 1 : 4 1 : 5							

Таблица 20 - Спектры поглощения желтых пигментов

Раствор	Часть спектра						
	Ф	С	Г	З	Ж	О	К
Каротина							
Ксантофилла							

6. Флуоресценция хлорофилла

Материалы и оборудование: спиртовой раствор пигментов листа, темная бумага, настольная лампа, пробирка.

Вводные пояснения. Хлорофилл обладает оптическим свойством, называемым флуоресценцией. Флуоресценция - излучение поглощенных квантов света. В соответствии с правилом Стокса флуоресценция сдвинута в более длинноволновую часть по сравнению с поглощением света, максимум ее - 650-668 нм. Хлорофилл в листе флуоресцирует слабо. Это связано с тем, что энергия поглощенных квантов в основном преобразуется в химическую, причем по степени флуоресценции листа можно судить об эффективности фотосинтеза. Чем интенсивнее флуоресценция, тем ниже КПД использования поглощенной энергии.

Ход работы. Пробирку со спиртовым раствором пигментов помещают на темную бумагу у источника освещения и рассматривают в отраженном свете. Отмечают цвет хлорофилла и делают выводы.

Контрольные вопросы:

1. Какими пигментами представлена пигментная система хлоропластов и какова их химическая природа?
2. Какие растворители используются для извлечения пигментов из растительного материала и почему?
3. Какими методами можно разделить пигменты зеленого листа?
4. Как действуют кислоты и щелочи на хлорофилл?
5. Чем можно объяснить, что растения усваивают из широкого диапазона длин волн солнечной радиации лишь очень небольшую часть энергии?
6. Какую роль в поглощении и превращении энергии света играют разные пигменты? Какие пигменты являются основными, а какие - вспомогательными?
7. Как структура молекулы хлорофиллов связана с физическими свойствами и функцией этих пигментов?
8. Какие различия в составе и количестве пигментов у светолюбивых и теневыносливых растений?
9. В чем состоит явление флуоресценции и как оно может использоваться?

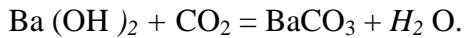
Раздел 4 ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ

Контрольные вопросы: продолжительный распад органических веществ, синтезированных в процессе фотосинтеза, протекающий с потреблением кислорода и выделением углекислого газа. Этот процесс присущ всем живым организмам. Жизнь любого организма связана с непрерывным использованием энергии, выделяющейся при дыхании. При этом дыхание - не просто процесс для образования АТФ, но и одна из сторон метаболизма, при которых образуются промежуточные соединения для синтеза всех компонентов растения.

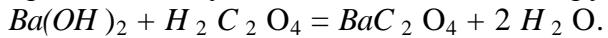
Работа 6. Определение интенсивности дыхания по количеству выделенного CO_2

Материалы и оборудование: различные растительные объекты (проросшие и не проросшие семена, листья, цветки и т.д.); 0,1 н раствор $\text{Ba}(\text{OH})_2$ в бюретке, закрытой пробкой, в которую вставлена трубка с натронной известью; 0,1 н раствор щавелевой кислоты ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) в бюретке, фенолфталеин в капельнице, весы, конические колбы (3 шт.) и резиновые пробки к ним, марля.

Вводные пояснения. Под интенсивностью дыхания понимают количество CO_2 , выделенное единицей массы растения за единицу времени. Она зависит от возраста, интенсивности роста, органа, внешних и внутренних условий. Для определения интенсивности дыхания по количеству выделенного CO_2 в замкнутый сосуд помещают навеску исследуемого материала и определенное количество щелочи. Выделенный в процессе дыхания CO_2 реагирует со щелочью, в результате чего концентрация раствора уменьшается:



Через определенное время оставшуюся в колбе щелочь титруют:



Сравнивают полученную величину с результатом титрования такого же количества исходного раствора щелочи. Это необходимо для определения исходной концентрации щелочи и одновременно для учета того количества CO_2 , которое содержалось в сосуде до опыта, а также поглощаемого щелочью во время открывания сосуда. Разность между результатом титрования содержимого контрольного и опытного сосудов прямо пропорциональна количеству выделяемого при дыхании CO_2 .

Продолжительность экспозиции зависит от размера навески и интенсивности дыхания исследуемого объекта. Если время поглощения не велико, то разность между результатами титрования $\text{Ba}(\text{OH})_2$ в контрольной и опытных колбах будет не достоверной. И наоборот, если в колбе окажется слишком мало щелочи, то может произойти неполное поглощение CO_2 . Желательно поэтому подобрать такую экспозицию, чтобы на связывание CO_2 было израсходовано 10-40% щелочи.

Ход работы. Навеску исследуемого материала (5-10 г) помещают в марлевый мешочек и прикрепляют его к пробке при помощи крючка, вставленного в пробку. Вносят в колбу 2 капли фенолфталеина и наливают 10 мл 0,1 н. $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Быстро опускают в колбу материал, плотно закрывают колбу пробкой и записывают время начала опыта.

В контрольную (пустую) колбу также наливают 10 мл 0,1 н. $\text{Ba}(\text{OH})_2$ и 2 капли фенолфталеина, а потом плотно закрывают пробкой. Колбы с объектами, содержащими хлорофилл, на все время опыта помещают в темноту для исключения процесса фотосинтеза. Время от времени колбы осторожно покачивают, чтобы разрушить пленку BaCO_3 , препятствующую полноте поглощения CO_2 , не допуская попадания ни одной капли раствора на мешочек с материалом.

Через 1-2 ч вынимают материал, быстро закрывают колбу пробкой и отмечают время окончания опыта. Проводят титрование оставшейся щелочи, приливая через отверстие в пробке 0,1 н. щавелевую кислоту до слабо-розовой окраски, исчезающей от одной капли кислоты. Чтобы избежать уменьшения концентрации раствора из-за поглощения углекислоты

воздуха,

106 титрова

ние проводят через резиновую пробку с двумя отверстиями, одно из которых закрыто трубкой с натронной известью, а в другое плотно вставлен конец бюретки.

Контрольные вопросы титровать через 20 минут после помещения в нее раствора (за это время колбу необходимо периодически взбалтывать).

В работе используют варианты, предложенные преподавателем. Результаты записывают в таблицу, делают вывод.

Таблица 25 - Определение интенсивности дыхания

Вариант	Масса пробы, г	Количество Ba(OH) ₂ в колбе, мл	Продолжительность опыта, час	Пошло H ₂ C ₂ O ₄ , мл		Интенсивность дыхания, мг/г час
				контроль	опыт	

Расчет интенсивности дыхания проводят по формуле:

$$\frac{(a - b)K}{x} \cdot 2,2$$

где a - количество H₂C₂O₄, пошедшее на титрование Ba(OH)₂ в контрольной колбе, мл;

b - количество H₂C₂O₄, пошедшее на титрование Ba(OH)₂ в опытной колбе, мл;

K - поправка к титру H₂C₂O₄;

2,2 - количество мг CO₂, эквивалентное 1 мл 0,1 н H₂C₂O₄,

x - масса пробы, г; t - продолжительность опыта, час.

Контрольные вопросы:

- Что называют интенсивностью дыхания и какие факторы влияют на нее?
- Что лежит в основе метода определения интенсивности дыхания по количеству выделенной углекислоты?
- От чего зависит время экспозиции в опыте?
- Почему колбы с объектами, содержащими хлорофилл, необходимо на время опыта помещать в темноту?

Раздел 5

МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ

Минеральные вещества являются необходимой составной частью живых организмов, хотя и составляют около 5% массы. Причем многие рассеянные в земной коре элементы накапливаются в растениях в значительных количествах и таким образом включаются в природный круговорот веществ.

Для нормальной жизнедеятельности растительного организма требуется лишь небольшая группа элементов. С помощью вегетационных опытов было установлено, что к необходимым для высших растений элементам, кроме углерода, водорода и кислорода, усваиваемых в процессе воздушного питания, относятся макроэлементы, содержание которых колеблется от десятков до сотых долей процента (азот, фосфор, сера, калий, кальций, магний), и микроэлементы, содержание которых колеблется от тысячных до стотысячных долей процента (железо, марганец, медь, цинк, бор, молибден). Кроме того, для нормального развития некоторых растений необходимы кобальт, натрий, кремний, хлор.

Работа 7. Определение содержания золы в различных частях растений

Материалы и оборудование: различные части растений (стебли, листья, семена), муфельная печь, тигли, щипцы для тиглей, вытяжной шкаф, весы, эксикатор, азотная кислота, 10%-й раствор перекиси водорода, бюксы, сушильный шкаф.

Вводные пояснения. При сжигании растительного материала углерод, азот и водород улетучиваются в виде углекислого газа, воды и молекулярного азота. Остающийся после сжигания растений остаток (зола) содержит элементы, называемые зольными. Содержание зольных элементов в растении весьма непостоянно и изменяется под влиянием внешних

условий в довольно широких пределах, но при этом количественное соотношение элементов в различных органах растений остается более или менее постоянным. Содержание зольных элементов в различных **Контрольные вопросы:** частях одного и того же растения весьма различно и зависит от состава почвы, физиологических особенностей и возраста растения, а также от соотношения между живыми и мертвыми клетками в исследуемых частях растений. Из всех органов наиболее богаты зольными элементами листья (10-15%). В листьях картофеля содержится 5-13% золы, свеклы - 11-12, репы - 8-15%. В семенах содержится около 3% золы, в корнях и стеблях - 4-5%, в древесной коре - около 7%. Меньше всего золы в древесине, содержащей в основном мертвые оболочки клеток и состоящей преимущественно из углерода, кислорода и водорода, улетающих при сжигании, - около 1%.

Ход работы. Чисто вымытый и прокаленный тигель взвешивают с точностью до 0,01 г, помещают в него 3-5 г измельченной воздушно-сухой массы растений и ставят в муфельную печь. Первые 20-30 минут муфельную печь плотно не закрывают. После того, как прекратится выделение дыма и масса обуглится, тигли вынимают и охлаждают. Для ускорения озоления добавляют по 1 мл азотной кислоты и 10%-го раствора перекиси водорода.

После этого навеска вновь ставится в муфельную печь на 3040 минут. Затем тигли вынимают, охлаждают, добавляют окислители и опять ставят в печь. Так делают до полного сжигания. По окончании сжигания охлажденные тигли вновь взвешивают. Параллельно определяют влажность растительного материала: высушивание проводят при температуре 105°C, расчет процента золы ведут по абсолютно сухой навеске. Результаты записывают в таблицу, делают выводы.

Таблица 36 - Определение влажности растительного материала

Вариант	Повторность	Масса навески, т		Масса испарившейся воды, г	Влажность, %
		воздушно сухой	абсолютно сухой		

Таблица 37 - Определение количества золы в растительном материале

Вариант	Часть растения	Номер бюкса	Масса тигля, г			Абсолютно сухая масса, г		Содержание золы, %
			пустого	с материалом	с золой	материала	золы	

Контрольные вопросы:

- Почему некоторые элементы минерального питания называют зольными?
- Какие элементы входят в состав золы растений?
- Какие факторы влияют на содержание зольных элементов в различных растениях и их частях?

Работа 8. Микрохимический анализ золы

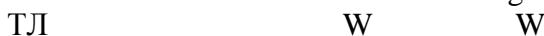
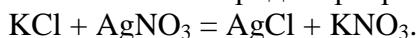
Материалы и оборудование: зола, дистиллированная вода, 10%-й раствор соляной кислоты, 1%-й раствор серной кислоты, 10%-й раствор аммиака, 1%-й раствор фосфорнокислого натрия, 1%-й раствор молибденовокислого аммония в 1%-м растворе азотной кислоты, 1%-й раствор желтой кровяной соли, пробирки (2 шт.), воронка, бумажные фильтры, стеклянные палочки с заостренным концом, предметные стекла, пипетка,

микроскоп, спиртовка, кусочки фильтровальной бумаги.

Вводные пояснения. В золе, полученной после сжигания растительного материала, содержится большое количество макроэлементов. Это и макроэлементы, и микроэлементы. Для изучения химического состава золы можно использовать микрохимический метод, для которого требуется небольшое количество материала. Микрохимический метод основан на использовании реагентов, образующих при взаимодействии с химическим элементом кристаллы характерной формы, свойственной только этим солям, или дающих цветные реакции.

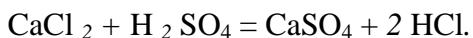
Ход работы. Готовят два раствора золы: в воде и в 10%-м растворе соляной кислоты. Для этого в фарфоровую чашечку помещают немного золы ($1/4 \text{ см}^3$), приливают 2 мл растворителя и тщательно размешивают стеклянной палочкой. Полученные растворы отфильтровывают. Все реакции, кроме реакций на хлориды и реакции берлинской лазури, проводят на предметном стекле. Тонкими стеклянными палочками наносят на стекло капли испытуемого раствора и реагента на расстоянии 2-3 мм друг от друга, затем соединяют их тонким дугообразным каналцем. В месте соединения произойдет реакция, а по краям каналца - быстрая кристаллизация продуктов реакции. Кристаллический осадок рассматривают под микроскопом.

В водном растворе обнаруживают растворимые в воде хлориды. Реактивом служит азотнокислое серебро, результат - белые хлопья хлорида серебра. Реакция:



В вытяжке с соляной кислотой открывают:

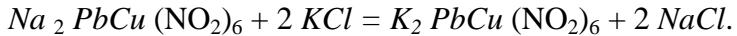
1. Кальций. Реактив - 1%-й раствор серной кислоты. Выпадают пучки игольчатых кристаллов гипса. Реакция:



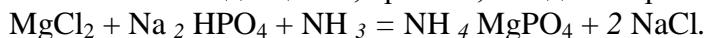
2. Калий. Реактив - 1%-й раствор PtCl_4 . Получается хлороплатинат калия, в виде желто-зеленых октаэдров и других кристаллов правильной системы. Реакция:



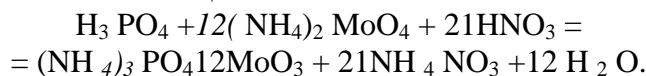
Для обнаружения калия может быть использован раствор ком - плексной соли $\text{Na}^{\text{b}}\text{C}^{\text{NO}}\text{^}$. При этом образуются свинцово-черные и темно-коричневые кристаллы свинцово-медного азотнокислого калия. Реакция:



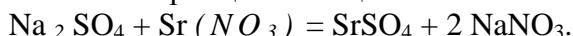
1. Магний. Каплю испытуемого раствора сначала нейтрализуют аммиаком, а затем соединяют с каплей 1%-го раствора фосфорнокислого натрия. Кристаллы фосфорно-аммиачно-магнезиальной соли имеют вид ящиков, крышек, звезд или крыльев. Реакция:



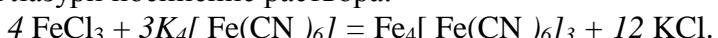
2. Фосфор. Реактив - 1%-й раствор молибденовокислого аммония в 1%-м растворе азотной кислоты. Получается зеленовато-желтый скрытокристаллический осадок фосфорно-молибденового аммиака. Реакция:



3. Сера. Реактив - 1%-й раствор азотнокислого стронция. Образуются мелкие закругленные кристаллы сернокислого стронция. Реакция:



4. Железо. Реактив - 1%-й раствор железистосинеродистого калия (желтая кровяная соль). Открытие элемента проводят в фарфоровой чашке. Происходит характерное для реакции берлинской лазури посинение раствора:



В ходе работы зарисовывают соответствующие кристаллы и отмечают, какие элементы встречаются в золе. Результаты записывают в таблицу, делают выводы.

Таблица 38 - Наличие химических элементов в золе растений

№п/п	Химический элемент	Отметка о наличии	Рисунок кристалла	Примечание

Контрольные вопросы:

1. Назовите основные макро- и микроэлементы, содержащиеся в растении.
2. Какой принцип положен в основу микрохимического анализа золы растений?

Раздел 6

РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ

Рост и развитие растений - важнейшие физиологические процессы из числа тех, которые в первую очередь определяют структуру, размеры и качество урожая.

Под ростом понимают новообразование цитоплазмы и клеточных структур, приводящее к увеличению числа и размеров клеток, тканей, органов и всего растения в целом. Рост представляет собой интегральный процесс и является результатом функциональной деятельности органов и растительного организма в целом. Растения, в отличие от животных, растут в течение всей жизни, но обычно с некоторыми перерывами (период покоя). Показатели темпов роста - скорость нарастания массы, объема, размеров растения.

Под развитием понимают качественные изменения структуры и функций растения в целом и его отдельных частей - органов, тканей и клеток, возникающие в процессе онтогенеза. Процессы роста и развития тесно взаимосвязаны. Показателем темпов развития служит переход растений к репродукции.

Работа 9. Определение жизнеспособности семян методом окрашивания

Материалы и оборудование: семена пшеницы, ячменя или кукурузы, 0,1%-й раствор индигокармина или кислого фуксина, дистиллированная вода, лупа, лезвие, препаровальная игла, колбы на 50 мл.

Вводные пояснения. Метод основан на том, что живая цитоплазма клеток зародыша непроницаема для индигокармина, кислого фуксина и других анилиновых красителей, тогда как мертвая легко их пропускает и окрашивается.

Ход работы. Семена замачивают в воде при комнатной температуре. Затем острым лезвием каждое семя разрезают на две половинки. Чтобы поверхность среза была ровной, разрез делают скользящим движением лезвия, начиная с зародыша. Половинки семян промывают несколько раз водой, чтобы удалить остатки разрушенных тканей с поверхности среза. Промытые половинки заливают 0,1%-м раствором индигокармина или кислого фуксина так, чтобы они полностью были покрыты раствором, при этом стаканчики осторожно встряхивают, чтобы раствор проник к срезам. Через 15 минут раствор сливают, половинки семян несколько раз промывают водой до исчезновения краски в промывной воде, раскладывают на фильтровальную бумагу и просматривают.

К жизнеспособным относят половинки семян или целые семена с неокрашенным зародышем, а также со слабо окрашенным кончиком корешка зародыша и слабо окрашенными пятнами на корешках и семядолях. К нежизнеспособным относят половинки семян или целые семена с окрашенным зародышем, а также с интенсивно окрашенными большими пятнами на зародыше. Жизнеспособность семян вычисляют в процентах. За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов анализа двух проб. Процент жизнеспособности рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{B}{A} \cdot 100,$$

где X - жизнеспособность семян, %;

A - всего семян, взятых для анализа, шт.;

B - количество жизнеспособных семян, шт.

Данные по определению жизнеспособности заносят в таблицу, делают выводы.

Таблица 45 - Определение жизнеспособности семян

Культура	Количество семян, шт.			% жизнеспособности
	всего	с окрашенными семядолями	с окрашенными зародышами	

Контрольные вопросы:

1. Что лежит в основе определения жизнеспособности семян методом окрашивания?

2. Какие концентрации растворов используются при определении жизнеспособности семян?

Работа 10. Определение жизнеспособности семян по скорости набухания

Материалы и оборудование: семена люцерны синей, термостат, чашки Петри, пинцет, фильтровальная бумага, 0,5%-й раствор NaOH.

Вводные пояснения. Метод основан на разной скорости набухания живых и мертвых семян бобовых растений, обусловленной неодинаковой проницаемостью семенных оболочек. Применяют для ориентировочной оценки жизнеспособности семян бобовых растений, хранящихся не более 2 лет.

Ход работы. Берут две пробы по 100 семян, помещают их в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную до полной влагоемкости 0,5%-м раствором NaOH, накрывают крышками. Чашки Петри ставят в термостат при температуре 20°C. Через 45 минут пробы просматривают, подсчитывают количество жизнеспособных семян. Жизнеспособными считают такие семена, которые за указанный срок не набухли, а нежизнеспособными - набухшие. Нежизнеспособные семена при нажиме пинцетом легко раздавливаются или у них оболочка легко отделяется от зародыша.

Жизнеспособность семян вычисляют в процентах. Процент жизнеспособности расчитывают по формуле:

$$X = \frac{B}{A} \cdot 100,$$

где X - жизнеспособность семян, %;

A - всего семян, взятых для анализа, шт.;

B - количество жизнеспособных семян, шт.

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов анализа двух проб.

Таблица 46 - Определение жизнеспособности семян

Куль - тура	Количество семян в пробе, шт.		Количество жизнеспособных семян в пробе, шт.		% жизнеспособности	
			№ пробы			
	1	2	1	2	1	2

Контрольные вопросы:

1. Для каких культур используют метод определения жизнеспособности семян по скорости набухания?

2. Что лежит в основе метода определения жизнеспособности по скорости

набухания семян?

Раздел 7

ОБМЕН ВЕЩЕЙ

Контрольные вопросы:

Растительный организм - сложная самоорганизующаяся и саморегулирующаяся биологическая система, в которой постоянно происходят процессы синтеза, распада и превращения органических веществ, направленные на поддержание его жизненных функций при изменяющихся условиях внешней среды. В организме одновременно проходит большое количество различных реакций, осуществляющихся в нужном направлении с помощью систем регуляции, обеспечивающих согласованный ход всех биохимических превращений.

Явление саморегуляции становится возможным благодаря принципу обратной связи, когда продукт отдельно взятой реакции влияет на всю взаимосвязанную цепь реакций через ферменты (ферментная регуляция) или нуклеиновые кислоты (генная регуляция). Всю совокупность биохимических реакций, происходящих в процессе жизнедеятельности организма, принято называть метаболизмом или обменом веществ, а различные продукты этих реакций - метаболитами.

Работа 11. Определение активности амилаз в прорастающих семенах

Материалы и оборудование: проросшие семена пшеницы, ячменя и гороха, фарфоровые ступки с пестиками, кварцевый песок, центрифужные пробирки на 50 мл, градуированные пипетки на 1,5 и 10 мл, мерные цилиндры на 25 мл, весы, водяная баня или термостат, мерные колбы на 50 мл, конические колбы на 100 мл, центрифуга, фотоэлектроколориметр ФЭК-56М, растворы: 1%-й раствор NaCl; 0,2 н ацетатный буфер (рН 5,5); 2%-й раствор крахмала; 1 н раствор HCl; 0,1 н раствор HCl.

Вводные пояснения. В процессе прорастания семян крахмал распадается на более простые соединения. Гидролитический распад крахмала может проходить при участии четырех видов гидролаз: а-амилазы, Р-амилазы, глюкоамилазы и амилопектин-1,6-глюкозидазы. По мере набухания семян, в период прорастания, возрастает активность гидролитических ферментов, при этом содержание крахмала падает, а сахаров - возрастает.

Определение суммарной активности амилаз включает выделение амилаз раствором NaCl, инкубацию их со стандартным раствором крахмала в течение заданного промежутка времени и фотоколориметрическое определение негидролизованного амилазами остаточного крахмала. Активность амилаз выражается в миллиграммах гидролизованного крахмала за 1 час на 1 мл раствора ферментов.

Ход работы. Взвешивают 4 грамма проросших семян пшеницы, ячменя или гороха, помещают в фарфоровую ступку, добавляют немного промытого и прокаленного кварцевого песка, 10 мл 1%-го раствора NaCl и тщательно растирают до получения однообразной мелкодисперсной кашицы. Добавляют еще 5 мл раствора NaCl и продолжают растирать. Затем суспензию коли - чествертью переносят в центрифужную пробирку на 50 мл. Ступку и пестик несколько раз ополаскивают небольшими порциями NaCl и сливают их в пробирку, следя, чтобы общий объем жидкости не превысил 40-45 мл. В пробирку помещают стеклянную палочку и содержимое тщательно перемешивают, после чего оставляют на 1 час в холодильнике (далее перемешивают через каждые 15 минут). Затем пробирку вынимают из холодильника и центрифугируют 15 минут. Надосадочную жидкость (препарат амилаз) осторожно сливают в чистую сухую колбу, закрывают ее и при необходимости помещают в холодильник.

Активность амилаз, выделенных из того или иного объекта, определяют при помощи специально приготовленных растворов чистого крахмала заданной концентрации. В две градуированные на 10 мл чистые сухие пробирки вносят по 3 мл 0,2 н ацетатного буфера с рН 5,5 и по 3 мл 2%-го раствора крахмала. Осторожным встряхиванием содержимое пробирок перемешивают и ставят на водяную баню, нагретую до 40°C. По достижении указанной температуры в одну пробирку приливают 0,5 мл ферментного препарата (опыт), а во вторую пробирку вместо ферментного препарата вносят 0,5 мл воды. Смесь в пробирках осторож-

но перемешивают и вновь помещают на 30 минут на водяную баню, нагретую до 40°C.

Через 30 минут инкубирования в реакционную смесь каждой пробирки для остановки реакции вносят по **Контрольные вопросы:** содержимое перемешивают. Затем из каждой пробирки берут по 0,5 мл смеси и вносят в мерные колбы на 50 мл, которые заранее до половины заполнены водой и в них внесено по 1 мл 0,1 н раствора HCl и по 5 капель 0,3%-го раствора йода в 3%-ом растворе KJ. Колбы доводят до метки водой, закрывают и хорошо перемешивают содержимое.

Окрашивание смеси лучше проводить во времени с интервалами 3 минуты, стремясь к тому, чтобы период от начала окрашивания до фотоколориметрирования для каждой колбы был примерно одинаковым (в среднем 3 мин). Фотоколориметрирование проводят при красном светофильтре.

Активность амилаз рассчитывают по формуле:

$$AA = \frac{E_K - E}{E_K}$$

где AA - активность амилаз - мг гидролизованного крахмала за 1 ч на 1 мл ферментного раствора;

$E_K - E_o$ - светопоглощение, соответственно, контрольного и опытного растворов в единицах шкалы прибора;

2-2 - коэффициенты пересчета на 1 ч и 1 мл ферментного раствора;

60 - коэффициент пересчета на 1 мг крахмала (3 мл 2% раствора соответствуют 60 мг).

Полученные результаты заносят в таблицу, делают выводы.

Таблица 52 - Определение активности амилазы (AA)

Вариант	Условия опыта	№ колбы	Светопоглощение растворов, единиц прибора		AA, мг гидролизованного крахмала за 1 час на 1 мл ферментного раствора
			контрольного	опытного	

Контрольные вопросы:

1. Какие ферменты участвуют в гидролизе крахмала?
2. В чем сущность метода определения суммарной активности амилаз?
3. В каких единицах измеряется активность амилаз?

Работа 12. Обнаружение запасных веществ

Материалы и оборудование: набухшие зерновки злаков, семена бобовых, клещевины, конопли, льна, семянки подсолнечника, клубни картофеля, георгины, топинамбура, луковица лука, корень моркови, плоды груши, винограда, раствор i в KI, спирт, жидкость Фелинга, осмиевая кислота (от 0,25 до 10%), глицерин, микроскоп, спиртовка, предметные и покровные стекла.

Вводные пояснения. Для обнаружения запасных веществ берут набухшие семена различных растений, плоды, корнеплоды: для глюкозы и фруктозы - корнеплод моркови, луковицу лука, плоды груши или винограда; для крахмала - зерновки злаков, клубни картофеля; для инулина - клубни топинамбура; для жиров - семена клещевины, подсолнечника, конопли, льна; для белков - семена бобовых.

Ход работы. Реакции проводят с использованием срезов, на предметном стекле. Для каждой реакции берут свежий срез.

1. Крахмал. Реактив - раствор йода в йодистом калии. На срез (например, клубня картофеля, набухшего зерна пшеницы) наносят каплю этого раствора. Наблюдают реакцию. Срез, содержащий крахмал, окрашивается в синий цвет.

2. Инулин. Клубни топинамбура помещают на 14 дней (не менее) в 50%-й раствор спирта. Затем делают срезы и рассматривают их под микроскопом. На стенках клеток будут видны **контрольные вопросы:** ефирокристаллы выделившегося инулина.

3. Глюкоза или фруктоза. Реактив - жидкость Фелинга, приготовленная по рецепту Пастера. Срезы берут не очень тонкие (в 3-4 слоя неповрежденных клеток). После приготовления срезов их ополаскивают в воде, помещают на предметное стекло в каплю разбавленной жидкости Фелинга и осторожно нагревают. В присутствии восстанавливающих сахаров образуется красный осадок Cu_2O .

4. Жиры. Реактив - осмиевая кислота (слабый раствор - от 0,25 до 1,0%). Срезы погружают в каплю кислоты, закрывают покровным стеклом и рассматривают в микроскоп. Осмиевая кислота окрашивает жир в бурый или черный цвет.

5. Белки. Реактив - йод в растворе йодистого калия. Срез помещают на предметное стекло в каплю глицерина, к которому прибавляют каплю реактива. Закрывают срез покровным стеклом и рассматривают в микроскоп. Белок окрашивается в золотисто-желтый цвет.

Полученные результаты заносят в таблицу.

Таблица 54 - Обнаружение запасных веществ

Вид растени я	Орган растени я	Наличие органического вещества (+;-)	Вид органического вещества	Примеча ние

Контрольные вопросы:

1. Какой принципложен в основу обнаружения запасных веществ?
2. Какие растительные объекты используют для обнаружения запасных веществ?

Работа 11. Получение раствора растительного белка и изучение его свойств

Материалы и оборудование: гороховая мука, колбы на 100 мл, резиновые пробки, 10%-й раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, воронка, фильтровальная бумага, пробирки, дистиллированная вода, NaCl , спиртовка, концентрированная HCl , 10%-й раствор NaOH , 1%-й раствор CuSO_4 , 10%-й раствор аммиака.

Вводные пояснения. Белки характеризуют любую живую систему. Протеины в растительном организме являются запасными белками, а сложные белки - протеиды - основными компонентами цитоплазмы и играют важную роль в организации клеточных структур. Протеины подразделяют на несколько групп по растворимости в различных растворителях. Одна из них - глобулины - белки, растворяющиеся в слабых водных растворах нейтральных солей. В семенах гороха содержится один из глобулинов - легумин.

Ход работы. В колбу насыпают 3-5 г гороховой муки, приливают 20-30 мл 10%-го раствора сернокислого аммония. Кол - бу закрывают пробкой, взбалтывают в течение 3 минут и оставляют в покое на 30 минут. Затем содержимое колбы отфильтровывают через плотный, смоченный тем же раствором соли фильтр. Если фильтрат получается мутный, его сливают обратно на фильтр. В полученном коллоидном растворе будет находиться глобулин (легумин), с которым необходимо провести следующие реакции.

1. *Нерасторимость глобулинов в воде.* Наливают в пробирку 1 мл полученного раствора и прибавляют избыток воды: раствор мутнеет вследствие выпадения в осадок глобулина. Затем прибавляют 10%-й раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: раствор вновь станет прозрачным благодаря растворению выпавшего осадка белка.

2. *Высаливание глобулинов при действии концентрирован - ных растворов нейтральных солей.* К 2-3 мл полученного раствора белка прибавляют концентрированный раствор NaCl или просто всыпают сухую соль. Когда концентрация раствора достигнет примерно 50%, глобулин начнет выпадать в осадок, а раствор помутнеет. Затем добавляют

воду, то есть снова уменьшают концентрацию соли. Выпавший в осадок белок снова перейдет в раствор.

3. Денатурация белка концентрированной кислотой: Наливают в пробирку 2-3 мл раствора белка и, постепенно нагревая, доводят до кипения. Образовавшийся осадок белка, после добавления раствора соли, не растворяется. Во вторую пробирку к 2-3 мл раствора белка прибавляют небольшое количество концентрированной кислоты. Как и в первой пробирке, образовавшийся осадок белка после добавления солевого раствора не растворяется.

4. Биуретовая реакция. Эту реакцию дают соединения, содержащие группу CONH и состоящие из нескольких аминокислот. Раствор белка сильно подщелачивают 10%-м раствором NaOH, и затем прибавляют по каплям слабый раствор CuSO₄ (бледноголубого цвета). Образующийся осадок Cu(OH)₂ в присутствии белка растворяется и окрашивает раствор в фиолетовый цвет.

5. Ксантопротеиновая реакция. Эта реакция указывает на присутствие в молекуле белка фенилаланина, тирозина или триптофана. К раствору белка прибавляют крепкую концентрированную кислоту, затем нагревают. Происходит денатурация белка, осадок и раствор при этом окрашиваются в желтый цвет. После охлаждения добавляют аммиак, желтый цвет переходит в оранжевый.

Контрольные вопросы:

1. Какую роль играют протеины и протеиды в растительном организме?
2. Какие белки относят к глобулинам?

Раздел 8

ПРИСПОСОБЛЕНИЕ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К НЕБЛАЕОПРИИТНЫМ УСЛОВИЯМ СРЕДЫ

Приспособленность онтогенеза растений к условиям среды сформировалась в процессе эволюционного развития в результате длительного действия соответствующих условий. Адаптация растения к конкретным условиям среды обеспечивается за счет физиологических механизмов (физиологическая адаптация), а у популяции организмов (вида) - благодаря механизмам генетической изменчивости, наследственности и отбора (генетическая адаптация). Оценка устойчивости растений к экстремальным факторам (холоду, морозу, засухе, жаре, засоленности) важна для селекционной и агрономической практики.

Работа 15. Определение засухоустойчивости растений по прорастанию семян на растворах сахарозы

Материалы и оборудование: семена пшеницы или ячменя, чашки Петри, фильтровальная бумага, мерная пипетка, колбы, пинцет, термостат, дистиллированная вода, растворы сахарозы с различным осмотическим давлением (для мягкой пшеницы - 16, 18 и 20 атм.; для твердой пшеницы - 10, 12 и 14 атм.; для ячменя - 14 атм.).

Вводные пояснения. Метод относится к наиболее простым косвенным методам для оценки относительной засухоустойчивости и основан на определении прорастания семян в растворах осмотиков, имитирующих недостаток влаги. Способность семян прорастать в этих условиях отражает, с одной стороны, наследственное свойство прорастать при относительно меньшем количестве воды, с другой - наличие высокой сосущей силы, обеспечивающей быстрое поглощение нужного количества воды.

Семена каждого вида или сорта представляют собой популяцию, в которой одни семена способны прорастать при более высоком осмотическом давлении, другие - при более низком. Поэтому, чем больше в популяции первых семян, тем выше процент их прорастания при какой-то одной средней концентрации осмотика.

Для распределения образцов по группам устойчивости достаточно проращивать семена при одной концентрации. Используя же растворы нескольких концентраций, по степени снижения процента прорастания с увеличением осмотического давления, можно более глубоко судить о степени устойчивости отдельных образцов внутри групп.

Ход работы. Семена раскладывают на фильтровальной бумаге в чашки Петри, по 50 штук в каждую в трехкратной повторности. В каждую чашку наливают по 5 мл раствора сахарозы (опыт) или **Контрольные вопросы** чашки помещают на 5 суток в термостат при температуре 20-21°C, а затем проводят подсчет проросших семян. Процент прорастания (Р) определяется количеством семян, имеющих корешки, в том числе даже самой минимальной длины. Процент прорастания определяют следующим образом: среднее на чашку число проросших в контроле семян принимают за 100%, а среднее число семян, проросших в растворе сахарозы (а), выражают в процентах от числа семян, проросших в контроле (в):

а

$$P = \frac{a}{v} \cdot 100\%.$$

в

Чем выше процент прорастания семян в растворе сахарозы, тем более засухоустойчив образец.

В работе используют варианты, предложенные преподавателем. Данные наблюдений записывают в таблицу и делают выводы.

Таблица 56 - Определение процента прорастания семян на растворах сахарозы

Вариант	Число семян, проросших на контроле, шт.	Число семян, проросших на растворе сахарозы, шт.	% прорастания

Контрольные вопросы:

1. Что лежит в основе использования осмотиков для определения засухоустойчивости растений?

2. Что отражает способность семян прорастать на растворах сахарозы с высоким осмотическим давлением?

3. Каким образом связана величина процента прорастания семян на растворах сахарозы с засухоустойчивостью растений?

4. Что лежит в основе метода определения засухоустойчивости растений по прорастанию семян на растворах сахарозы?

Работа 14. Определение жаростойкости растений

Материалы и оборудование: свежие листья каких-либо растений с нейтральной реакцией клеточного сока, раствор HCl (0,2 н), водяная баня, термометр, пинцет, чашки Петри, стакан с водой.

Вводные пояснения. При повышении температуры выше оптимальной в растениях нарушается обмен веществ. При высоких температурах резко повышается проницаемость цитоплазматических мембран, а затем наступает коагуляция белков и отмирание клеток.

Если подвергнуть лист действию высокой температуры, а затем погрузить в слабый раствор соляной кислоты, то поврежденные и мертвые клетки побуреют вследствие свободного проникновения в них кислоты, при действии которой произойдет превращение хлорофилла в феофитин, тогда как неповрежденные клетки останутся зелеными. Чем сильнее будет поврежден лист, тем скорее и в большем количестве появляются бурые пятна от образовавшегося феофитина.

У растений, имеющих кислый клеточный сок, образование феофитина может произойти и без обработки соляной кислотой, так как при нарушении полупроницаемости тонопласта органические кислоты проникают из клеточного сока в цитоплазму и вытесняют магний из молекулы хлорофилла.

Ход работы. Нагревают водяную баню до 40°C, погружают в нее по 5 листьев исследуемых растений и выдерживают листья в воде в течение 30 минут, поддерживая температуру на уровне

40°C. Затем вынимают по одному листу каждого вида растений и помещают их в чашку Петри с холодной водой. Поднимают температуру в водяной бане до 45°C и через 10 минут после этого извлекают еще по одному листу и переносят их в новую чашку с холодной водой. Таким же образом берут пробы при 50, 55 и 60°C.

После охлаждения образцов воду в чашках Петри заменяют 0,2 н соляной кислотой и через 20 минут учитывают степень повреждения листьев по количеству появившихся бурых пятен. Результаты заносят в таблицу, обозначив отсутствие побурения знаком «-», слабое побурение - «+», побурение более 50% площади листа - «++», сплошное побурение - «++ +».

Таблица 64 - Определение степени повреждения листьев

Вариант	Степень повреждения листьев при воздействии температурой				
	40°C	45°C	50°C	55°C	60°C

Делают выводы о степени жаростойкости исследуемых растений.

Контрольные вопросы:

1. Что происходит с клетками растений при действии на них высокой температурой?
2. . Почему данный метод пригоден только для растений с нейтральной реакцией клеточного сока?

Работа 16. Выявление защитного действия сахаров на протоплазму

Материалы и оборудование: корнеплоды свеклы, растворы сахарозы (0,5 и 1,0 М), NaCl, снег или колотый лед, пробирки, мерная пипетка на 10 мл, термометр, скальпель, пробочное сверло диаметром 6 мм, бритва, микроскоп, предметные и покровные стекла, фильтровальная бумага, дистиллированная вода, кристаллизатор.

Вводные пояснения. При действии отрицательных температур в межклетниках образуется лед, который, оттягивая на себя воду, обезвоживает протоплазму, что может привести к коагуляции ее белков. Кристаллы льда, образующиеся непосредственно в клетках, оказывают механическое воздействие, в результате которого нарушается внутренняя структура протопласта и может наступить его гибель. Скорость отмирания протопласта клеток зависит как от температуры и времени экспозиции, так и от водоудерживающей способности самой клетки. Увеличение количества сахаров в зимующих органах растений повышает водоудерживающую способность тканей.

Ход работы. Из поперечного среза красной столовой свеклы толщиной 0,5 см при помощи пробочного сверла делают выщечки. Тщательно ополаскивают их водой и помещают в три пробирки по 3-4 выщечки в каждую. В первую пробирку наливают 5 мл дистиллированной воды, во вторую - 5 мл 0,5 М раствора сахарозы, в третью - 5 мл 1,0 М раствора сахарозы. Пробирки на 20 минут помещают в охладительную смесь, состоящую из трех частей льда или снега и одной части NaCl. Затем пробирки вынимают из охладительной смеси и размораживают в стакане воды комнатной температуры.

Отмечают различия в интенсивности окрашивания жидкостей в пробирках. Из анализируемых вытяжек готовят тонкие срезы и рассматривают их под микроскопом при малом увеличении в капле того же раствора, в котором они находились. Подсчитывают общее число клеток в одном поле зрения и число обесцвеченных клеток, из которых вышел антоциан. Результаты опыта заносят в таблицу, делают выводы.

Таблица 69 - Определение защитного действия сахаров на протоплазму

Условия	Число клеток в поле зрения микроскопа		Отношение числа окрашенных клеток к общему их числу	Вывод
	всего	окрашенных		
Вода				
Сахароза, 0,5 М				
Сахароза, 1,0 М				

Контрольные вопросы:

- Что происходит в клетках при воздействии отрицательных температур?
- Что определяет скорость отмирания протоплазмы клеток?

Работа 17. Оценка кислотоустойчивости растений

Материалы и оборудование: семена различных сортов пшеницы или ячменя, термостат, раствор Кнопа, растильни, линейка, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$.

Вводные пояснения. Выявлено, что у более устойчивых к кислотности сортов уже в период прорастания семян обнаруживаются отличия от менее устойчивых сортов данной культуры. Причем ингибирование кислой средой начальных ростовых процессов прямо пропорционально скорости поглощения зерновками воды (содержащей H^+ и Al^{3+}) и количеству белка в эндосперме и зародыше. Установлено, что отношение массы целых растений, выращенных при кислой реакции среды, к массе растений, полученных на среде с pH , близкой к нейтральной, коррелирует со степенью их устойчивости к токсически действующим ионам. Этот показатель называют коэффициентом устойчивости (КУ) и считают одним из лабораторных диагностических тестов для ранней идентификации форм, толерантных к H^+ и Al^{3+} .

Доказано, что изменение длины корней в начальные фазы развития (10-12 суток) под влиянием H^+ и Al^{3+} в растворе достоверно отражает степень устойчивости генотипа к ингибирующему действующим агентам на последующих этапах онтогенеза. Индекс относительной длины корней (ИДК) - отношение средней длины при высокой концентрации стрессового фактора к средней длине кор - ней при низкой - хорошо коррелирует с урожайностью культуры.

Ход работы. Семена проращивают в двух растильнях с половинной нормой питательного раствора Кнопа, по 50 шт в каждой. В раствор первой растильни добавляют 28 мг/л Al^{3+} , а вторая служит контролем. Растения выращивают в термостате в течение 7-10 дней. Затем измеряют длину корней всех проростков в растильне, находят среднюю величину показателя. Определяют абсолютно сухую биомассу проростков путем высушивания в сушильном шкафу при 105°C до постоянной массы. Рассчитывают индекс относительной длины корней и коэффициент устойчивости. Результаты заносят в таблицу, делают выводы об устойчивости различных сортов культуры.

Таблица 70 - Расчет индекса относительной длины корней и коэффициента устойчивости к токсичности кислых почв

Вариант	Длина корней, см		ИДК	Абсолютно сухая биомасса проростков, г		КУ
	контроль	Al^{3+}		контроль	Al^{3+}	

Контрольные вопросы:

- Что называют кислотностью почвы и какое действие она оказывает на растения?

2. Что называют индексом относительной длины корней и коэффициентом устойчивости к токсическому действию кислых почв?

Контрольные вопросы:
Работа 13. Определение солеустойчивости растений по прорастанию семян в солевых растворах

Материалы и оборудование: семена растений различной солеустойчивости, раствор формалина, растворы NaCl различной концентрации (см. таблицу), чашки Петри, марлевые мешочки, сушильный шкаф, термостат.

Вводные пояснения. Для диагностики устойчивости растений к засолению почвы применяют различные методы, но все они имеют в своей основе одно необходимое условие - создание провокационного фона засоления. Одним из наиболее распространенных является способ определения солеустойчивости по прорастанию семян на растворах солей. Он имеет множество модификаций и охватывает практически все основные группы культур. Основной показатель устойчивости - процент проросших семян за определенный период времени при засолении по сравнению с дистиллированной водой.

Ход работы. Семена каждого вида и сорта помещают в марлевые мешочки и обрабатывают раствором формалина (1 мл на 300 мл воды) в течение 3-5 минут. Затем семена слегка просушивают и раскладывают по 50 штук в две чашки Петри на фильтровальную бумагу. Чашки Петри с фильтровальной бумагой предварительно прокаливают в сушильном шкафу при температуре 150°C. В первую чашку Петри добавляют раствор хлористого натрия (опыт), во вторую - дистиллированную воду (контроль). Закладку опыта проводят в двухкратной повторности. Условия проращивания семян представлены в таблице.

Таблица 71 - Условия проращивания семян

Культура	Уровень засоления NaCl, атм.	Период проращивания, суток	Количество раствора NaCl на одну чашку, мл	Учетная длина проростка, не менее, мм	Температура проращивания, °C
Пшеница	10	7	6-7	5	22±2
Ячмень	7	6	7	5	22±2
Рожь	11,5	7	5-6	5	22±2
Кукуруза	7	7	8-10	5	22±2
Горох	5	7	15	5	22±2
Капуста	11	7	5	5	22±2
Арбуз	6	10	7	5	22±2

По окончании проращивания определяют число проросших семян в чашках с контрольным и опытным вариантом, находят средние величины из двух повторностей.

Среднее число семян, проросших в дистиллированной воде, принимают за 100%, а среднее число семян, проросших в растворе соли (а), выражают в процентах от числа семян, проросших в контроле (в):

а

$$P = — 100\%.$$

в

Чем выше процент прорастания семян в растворе соли, тем более солеустойчив образец.

Полученные результаты заносят в таблицу, делают выводы.

Таблица 72 - Определение процента прорастания семян на растворах NaCl

Вариант	Число семян, проросших на контроле, шт.	Число семян, проросших на растворе NaCl, шт.	% прорастания

Контрольные вопросы:

1. Какой принцип лежит в основе диагностики устойчивости растений к засолению почвы?
3. Что принимают за основной показатель солеустойчивости при проращивании семян на растворах солей?

**3. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ПРОВЕДЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ**

Не предусмотрено РУП.

**4. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ПРОВЕДЕНИЮ СЕМИНАРСКИХ ЗАНЯТИЙ**

Не предусмотрено РУП.