

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ 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 заочная

## СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций
  - 1.1. Л-1 Поглощение, транспорт и выделение воды растением
  - 1.2. Л-2 Современная теория фотосинтеза
  - 1.3. Л-3 Современная теория дыхания и роль дыхания в продукционном процессе растений
  - 1.4. Л-4 Физиологические основы роста и развития растений
  - 1.5. Л-5 Устойчивость растений к абиотическим и биотическим факторам внешней среды
2. Методические указания по выполнению лабораторных работ
  - 2.1. ЛР-1 Плазмолиз и деплазмолиз растительной клетки. Влияние анионов и катионов солей на форму и время плазмолиза.
  - 2.2. ЛР-2 Определение интенсивности транспирации и относительной транспирации весовым методом.
  - 2.3. ЛР-3 Пигменты листа и их свойства.
  - 2.4. ЛР-4 Определение интенсивности дыхания по количеству выделенного  $\text{CO}_2$
  - 2.5. ЛР-5 Микрохимический анализ золы растений.
  - 2.6. ЛР-6 Обнаружение запасных веществ.
  - 2.7. ЛР-7 Оценка засухоустойчивости растений по соотношению различных форм воды в листьях.
3. Методические указания по проведению практических занятий  
Не предусмотрено РУП.
4. Методические указания по проведению семинарских занятий  
Не предусмотрено РУП.

### 1. КОНСПЕКТЫ ЛЕКЦИЙ

- Л-1 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, окислительно-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; коллоидносвязанная вода гидратирует коллоиды (макромолекулы); капиллярносвязанная 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 веществ по растению.

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 дифференциированной 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 корневого давления. 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 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 «мертвый запас» влаги. Количество доступной для растения воды представляет собой разность между полевой влагоемкостью (максимальное количество воды, удерживаемое почвой) и «мертвым запасом».

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 возрастают сосущая сила. Это приводит к усилению 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 завялого 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 эпидермиса, степени 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 (дм<sup>2</sup>). 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 м<sup>2</sup> 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 производственных 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 однослойный эпидермис, внешние стенки клеток которого покрыты кутикулой и воском, образующими эффективный

барьер на пути движения воды. Кутикула состоит из кутина - бесструктурного образования, лишённого корпскулярных 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. У большинства ксерофитов в кути- кулярном 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 - подустьич- ную 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  $\text{мм}^2$ . 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 устьич- ных 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 устьич- ные 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  $\text{H}^+$ -насосов в

плазмалемме замыкающих клеток, которые участвуют в  $H^+/K^+$  обмене, вследствие чего снижается их тургор и устьица закрываются. Абсцизовая кислота также ингибитирует 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 среде приводит к возобновлению 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 капельножидком состоянии. Гигрофиты плохо переносят почвенную и воздушную засуху;

мезофиты (лиственные 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 тургора 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.

## Л2 Современная теория фотосинтеза

### Основные вопросы

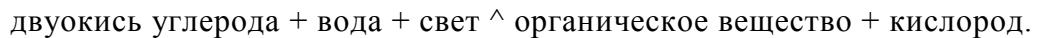
#### Определение понятия «фотосинтез»

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

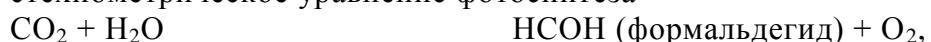
Процесс приобретения знаний в области фотосинтеза начался с первых количественных экспериментов Ван Гельмонта (начало XVII в.) по выращиванию ивы на песке, работ С. Гельса в 1727 г. и его труда «Статика растений», в котором утверждалось, что часть необходимого питания растения получают при помощи листьев 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. Фаминцын (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



которое фигурировало в учебниках почти 100 лет.

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 ассимиляции  $\text{CO}_2$  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 *a* и *b* можно разделить 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. Ненц-кий 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  $\text{CO}_2$  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 флюoresценции 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 ( $\text{Fe}^+ \text{Fe}^-$ ) (реакция Хилла). Рубен начал изучение химизма фотосинтетического восстановления углекислого газа с помощью изотопов  $\text{C}^{14}$ . Первый этап усвоения  $\text{CO}_2$  - нефотохимическая ферментативная реакция карбокси-лирования.

*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 хлоропластиах. 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. Очоа, В. Вишняк, Р. Эмерсон, Френч, Л. Дейсенс); фотосинтетическом фосфорилировании (Д. Арнон); путях превращения углерода (М. Калвин, Дж. Бассам, Э. Бенсон, М. Хетч и 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 надцарстве Доядерных организмов (Prokaryota), 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 Anaclochloris, 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 (Athiorhodaceae) имеют пурпурную, красную или бурую окраску, в зависимости от природы каротиноидов. Встречаются преимущественно в средах, содержащих органические соединения. Способны к фотохимическому

восстановлению  $\text{CO}_2$  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 Багрянок (Rhodobionta) - 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*.

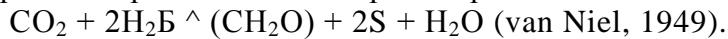
#### Основные балансовые уравнения фотосинтеза

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

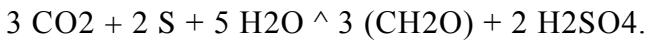


где  $(\text{CH}_2\text{O})$  - условное обозначение образующегося при фотосинтезе органического вещества (1/6 часть молекулы глюкозы). Акцептором водорода в данном уравнении выступает углекислый газ.

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  $\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{A} \xrightarrow{\text{CH}_2\text{O}} 2\text{A} + \text{H}_2\text{O}$ , где  $\text{H}_2\text{A}$  - универсальный донор водорода.

#### 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<sub>4</sub>*)

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

У большинства растений хлоропластины имеют форму эллипсоида, окружены двойной мембраной. Внутри хлоропласта расположены пигменты, содержащие мембранные, образующие замкнутые полости, «мешки», или тилакоиды. Свободное от тилакоидов пространство внутри хлоропласта называется стромой. Собранные в «стопки» тилакоиды образуют граны и могут называться тилакоидами гран. Свободно расположенные тилакоиды называют тилакоидами стромы. Хлоропластины, в которых есть граны, относят к гранальному типу, а те, в которых есть только тилакоиды стромы - к агранальному типу. Хлоропластины имеют кольцевую ДНК и все необходимые для синтеза белка компоненты. Геном хлоропластина кодирует лишь часть необходимых белков; другую часть кодирует ядерный геном фотосинтезирующей клетки. Хлоропластины 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 флюзмного 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 хлоропластинах активируется гликолатный путь (фотодыхание). С участием митохондрий на этом пути образуются аминокислоты глицина и серина.

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 км<sup>2</sup>, и до миллиарда тонн (т. х 10<sup>9</sup>) для всей планеты. В среднем на 1 км<sup>2</sup> суши приходится 110 т углерода в год. С поправкой на дыхание (15 %) валовый фотосинтез составит 130 т углерода/ км<sup>2</sup> 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/м<sup>2</sup>) - у пустынных ксерофитов и растений влажных субтропиков, минимальная - у растений средней полосы (4 - 6 г/м<sup>2</sup>).

Фотосинтетическая продукция в последние десятилетия находится под пристальным вниманием ученых в связи с угрозой развития парникового эффекта. Полученные за эти годы результаты 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 состояния 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<sub>2</sub> снизился от 2800 ppm до 1000 ppm и оставался таким в эоцене (37-58 млн лет назад); в последующие 40 млн лет концентрация CO<sub>2</sub> продолжала снижаться сначала до 500 ppm, а затем - до 180-220 ppm (в плейстоценовую эпоху). В 1997 г. Cerling et al. предположил, что C<sub>4</sub> - растения начали глобальную экспансию 5-7 млн лет назад, когда уровень CO<sub>2</sub> составлял 500 ppm. Современный уровень 330-360 ppm. Падение концентрации CO<sub>2</sub> привело к снижению эффективности C<sub>3</sub> фотосинтеза и усилению фотодыхания, в ходе которого может «теряться» до 50 % ассимилированного углерода.

Это послужило эволюционным стимулом для создания CO<sub>2</sub> - концентрирующего механизма. Первыми проблему увеличения концентрации CO<sub>2</sub> 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<sub>4</sub> - пути метаболизма. В результате возник механизм концентрации CO<sub>2</sub>, 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* C<sub>55</sub>H<sub>72</sub>O<sub>5</sub>K<sub>4</sub>Mg.

По химической природе молекула хлорофилла состоит из порфирино-вого кольца (тетрапиррола) в составе дикарбоновой кислоты - хлорофилли-на, этирифицированной 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 (=C-), соединяющих пиррольные кольца, обозначены греческими буквами (α, β, γ, δ). У хлорофилла *a* в пиррольном кольце II метильная группа при C<sub>3</sub> заменена альдегидной. Его эмпирическая формула - C<sub>55</sub>H<sub>72</sub>O<sub>5</sub>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 ацетоне, серном эфире, этаноле, метаноле, сероуглероде, бензоле, плохо растворимы в петролейном эфире.

Спектры поглощения хлорофиллов *a* и *b* 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  $n_{D2}C = 1,3288$  максимум 665,7 нм; в сероуглероде с  $n_{D2}C = 1,6295$  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 флюoresценции в красной (ближней инфракрасной) области спектра. Максимум флюoresценции 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. Антеннную 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 грибов - конденсация сукцинил-СоА и глицина с образованием а-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 В<sub>6</sub> и пиридоксальфосфат зависимым 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. Ингибитируется кадмием и свинцом.

В образовании уропорфириногена III участвуют два фермента: ИБГ-деамина 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 уро-декарбоксилазой, который кодируется геном *hem12*. Образование протопор-фириногена IX происходит при окислительном декарбоксилировании двух пропионовых остатков в А и В кольцах копрогена-III с участием копрогенок-сидазы, 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 кprotoхлорофиллу 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 образованию protoхлорофилла. Свойственно хлорофиллам.

Protoхлорофилл описывают в двух формах: моновинильной и диви-нильной. 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 к его синтезу и в темноте.

На последнем этапе биосинтезаprotoхлорофиллид превращается в хлорофилл *a*.

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

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

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

Хорошо известно, что хлорофилл на свету деградирует и должен постоянно синтезироваться *de novo*. Удивительно, что образование хлорофиллида изprotoхлорофиллида 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 количестваprotoхлорофиллида. 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 содержанияprotoхлорофиллида (вероятно, в результате ингибирования реакции синтеза гема АЛКprotoхлорофиллидом).

Во время зеленения, когда этиолированные листья попадали на свет, фотоактивный пулprotoхлорофиллида восстанавливается до хлорофиллида. Образование хлорофилла на свету имеет лаг - фазу, за время которой активируется АЛА-синглетаза. В зеленеющих листьях и проростках диурон ингибирует синтез хлорофилла (вероятно, опосредованно, через ТФ и окислительно-восстановительное 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 хлорофилл-белковых комплексов с различной молекулярной массой и спектральными характеристиками поглощения и флюоресценции. Хлорофиллбелковые комплексы двух фотосистем интегрированы в мембранные тилакоида (мембранные стромы и мембранные граны). Светособирающий хлорофиллбелковый комплекс расположен 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-3 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, кетоглутаровая 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 аптомического пути окисления, входят в состав нуклеотидов, нуклеиновых кислот, никотинамидных и flavиновых 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 продуцировании биомассы.

#### Влияние внешних факторов на процесс дыхания

*Кислород* необходим для осуществления дыхания, так как он является конечным акцептором электронов в дыхательной электрон-транспортной цепи. Низкие концентрации кислорода (гипо- и аноксия) вызывают ингибицию 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 °С. Так, хвоя ели дышит при -25°С. Интенсивность дыхания, как всякой ферментативной реакции, возрастает при повышении температуры до определенного предела (35-40 °С).

*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 flavинов 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. Этилен увеличивает

проницаемость мембран и гидролиз белков, что приводит к повышению содержания субстратов дыхания. Однако это дыхание не сопровождается образованием АТФ. Интенсивность дыхания корней, как 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 происходят 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, оксидазы); изомеразы; карбоксилазы; трансферазы; оксигеназы. Изомеразы, карбоксилазы, трансферазы и некоторые другие ферменты не участвуют непосредственно в окислительных реакциях, но они преобразуют окисляемый субстрат таким образом, что он становится более

«удобным» для окислительных ферментов.

Основную функциональную группу ферментов дыхания - оксидоредуктазы - традиционно делят на дегидрогеназы, активирующие 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 В<sub>2</sub> - flavинадениндинуклеотид и flavинмононуклеотид. Окисляемая группировка -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-.

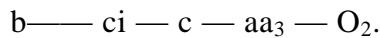
**Оксидазы.** Эти ферменты передают электроны от субстрата только на кислород. При этом образуются вода (на O<sub>2</sub> переносятся 4 электрона - цитохромоксидаза), перекись водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, на O<sub>2</sub> переносится 2 электрона - flavиновые оксидазы) или супероксидный анион кислорода (на O<sup>-</sup>2 переносится 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.

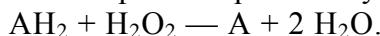
Железосодержащие оксидазы - сложные ферменты, коферментом которых является железопорфириновые производные.

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

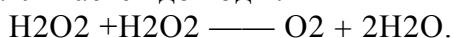
Коферментные части различных групп цитохромов различаются незначительно, но эти различия и специфика апоферментов определяют величину их окислительно-восстановительного потенциала. В дыхательной цепи цитохромы осуществляют транспорт электронов по градиенту окислительно-восстановительного потенциала переносчиков:



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 глутатион-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, ксенобиотики - чужеродные токсичные вещества). В качестве доноров электронов оксигеназы используют NAD(P)H, FADH<sub>2</sub> и др.

#### Специфика дыхания у растений

Дыхание растений намного сложнее, чем дыхание животных. Разнообразие каталитических 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-4 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 зацветание 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. Сказанное подчеркивает 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.

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 временем 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 корней конус нарастания 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 интеркаляр-ного (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 камбиальные 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 за ростом клетки, 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 организма.

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 totipotentностью.

#### 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 растения. 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 центральной вакуоли, сплошь 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 локализованной в плазматической мембране Н<sup>+</sup>-АТФазы и подкисление фазы клеточных стенок, что и приводит к их размягчению и растяжению.

На фазе дифференцировки, в 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 периклинально (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, вакуолизированы, 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 Gi; 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 эпидерму) нельзя назвать 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» являются фитогормоны. 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 при-мордьев 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 можно обнаружить при регенерации - восстановлении организмом утраченных или поврежденных частей тела, органов. Регенерация возможна благодаря totipotentности 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, дедифференцируются, 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.

## 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 секуализацию, 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. Органический 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 сравнительно низкомолекулярные 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), полизопренов (гиббереллины, АБК), непредельных углеводородов (этанол).

Среди гормонов растений имеются лишь органические соединения с молекулярной

массой от 28 (этилен) до 346 (гипбереллины). 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; гипбереллины; 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 мембранного 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 гипбереллинов 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 гипбереллинов, 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 квантов в красной области у растений есть фоторецептор - фитохром, состоящий из фитохромобилина (пигмент аналогичен фикобилину водорослей) в комплексе с белком. Фитохром может находиться в двух основных формах: красной ( $\Phi_{660}$ ) и дальней красной ( $\Phi_{730}$ ). При облучении красным светом (660 нм) фитохром  $\Phi_{660}$  трансформируется в форму  $\Phi_{730}$ . 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 интермедиаторов.

При определенных условиях освещенности существует динамическое равновесие между основными формами фитохрома, т. к. спектры  $\Phi_{660}$  и  $\Phi_{730}$  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  $\Phi_{660}$  в  $\Phi_{730}$ . В темноте преобладает  $\Phi_{660}$ , т.к. именно в этой форме синтезируется фитохром.  $\Phi_{660}$  более устойчив, а активная форма  $\Phi_{730}$  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  $\Phi_{730}$  может проявляться быстро, что связано, вероятно, с изменением свойств мембран (накопление  $\Phi_{730}$  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;

в систему передачи сигнала вовлечен промежуточный редокс-партнер; партнеру передается не электрон, а возбуждение квантами синего света, и этот квант приводит в действие еще одну хромофорную молекулу.

Если эффективное взаимодействие не состоялось, возбужденное фла- виновое 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 мембранныго 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  $\text{Cl}^-$ , а входят в нее катионы  $\text{Ca}^{+2}$  и, возможно,  $\text{H}^+$ . Это обусловлено не только электрическим потенциалом, но и тем, что в клеточных стенках концентрации  $\text{Ca}^{+2}$  и  $\text{H}^+$  на 2 - 3 порядка выше, чем в цитоплазме. Вход катионов и выход  $\text{Cl}^-$  приводит к деполяризации мембранныго потенциала (МП), что способствует открытию потенциалзависимых калиевых каналов, и  $\text{K}^+$ , 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 °C). Это указывает на существование у растений быстрой электрической связи, 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. изменения 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.

## Л-5 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 неблагоприятные ситуации. Есть три фазы стресса: 1) первичная стрессовая реакция; 2) адаптация; 3) истощение ресурсов надежности. Явления, наблюдаемые у растений при действии стрессоров, могут быть разделены на две 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 почвенному 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 катализитическими 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 условиям окружающей 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 сапрофитных 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 полностью зависят от 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 C<sub>3</sub>-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 - эфемеров 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.

#### 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 (удержание у поверхности 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 (САМ- 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 САМ-тип). В растениях много генов, регулируемых водным дефицитом и кодирующих 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 «ожоги».

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 листьях. Этот процесс 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, холдоустойчивость, 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 приспосабливается 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.

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 понижению 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 понижением 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 пероксины. В присутствии растворенного в воде кислорода возникают также мощный окислитель и новые пероксины. 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 пероксины, 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 ее 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 (сульфидрильные 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 трансфер АТФ, развитие свободнорадикальных 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 (аттраги-ирующих 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 резко возрастает выработка 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 накапливаются растворимые углеводы, отток которых из листьев замедлен. Снижается количество РНК (вследствие торможения ее

синтеза и активации рибонуклеаз). Идет распад полирибосомных комплексов. Длительная засуха может привести к изменению структуры ДНК. В растениях существует огромное количество генов, регулируемых водным дефицитом и кодирующими 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 холдоустойчивых растений много ненасыщенных жирных кислот, что позволяет поддерживать мембранны в жидким 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 в гормональной системе растений. Уменьшается содержание гормонов - активаторов роста (ауксин, цитокинин, гиббереллины, стимуляторы роста фенольной природы), и возрастает уровень

абсцизовой кислоты и этилена. 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 оводненность 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, производящему 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 никотиновой кислоты. Другой способ - подкормка растений нитратами. Г

азоустойчивость 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.

## 2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

Работа 1. Плазмолиз и деплазмолиз растительной клетки

*Материалы и оборудование:* лук красный, 1 М раствор  $\text{KNO}_3$ , стеклянная палочка, препаровальная игла, лезвие бритвы, микроскоп, фильтровальная бумага, предметное и покровное стекла, стакан с водой, пинцет.

*Водные пояснения.* Растительная клетка представляет собой осмотическую систему, в которой протопласт играет роль полуупроницаемой 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:*

1. Что такое плазмолиз и каковы его причины?
2. Как происходит деплазмолиз?
3. 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  $\text{KNO}_3$ , 1М  $\text{KCNS}$ .

*Водные 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       | $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ | 0,7                      |                                  |  |                        |
| 2       | $\text{KNO}_3$             | 1,0                      |                                  |  |                        |
| 3       | $\text{KCNS}$              | 1,0                      |                                  |  |                        |

На основании полученных результатов делают выводы о влиянии катионов и анионов на вязкость цитоплазмы.

*Контрольные вопросы:*

1. Какие формы плазмолиза различают? Чем характеризуется каждая форма?

2. Как связана форма плазмолиза с вязкостью цитоплазмы?
3. В чем выражается действие анионов и катионов на цитоплазму?
4. Что называют временем плазмолиза?
5. 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 тurgесцентное 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 2. 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/м<sup>2</sup> • 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 влажность 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 1 см для восстановления 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 касаться воды. Смонтированный 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 м<sup>2</sup> листовой поверхности в час.

Для определения площади листа, взятого для опыта, можно использовать весовой метод. Берут лист бумаги площадью 100 см<sup>2</sup> (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 см<sup>2</sup> имеет массу  $A$ , а кусочек бумаги, вырезанный по контуру листа, площадью  $S$  -  $B$  г, то площадь

листа

Интенсивность транспирации рассчитывают по формуле:

$$И_t = \frac{10000 C}{S T} \quad (2)$$

где  $C$  - количество испарившейся воды за время опыта, г;

$S$  - площадь листа,  $\text{см}^2$ ;

$T$  - 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 ( $E$ ) по формуле 2 и вычисляют величину относительной транспирации:

$$OT = \frac{И_t}{E} \quad (3)$$

Е

Результаты опыта записывают в таблицу. Делают выводы.

Таблица 11 - Расчет интенсивности транспирации и относительной транспирации растений

| Вариант | Масса испарившейся воды, г | Площадь листа, $\text{см}^2$ | Интенсивность транспирации, $\text{гм}^2/\text{ч}$ | Площадь чашки Петри, $\text{см}^2$ | Интенсивность испарения с водной поверхности, $\text{г м}^2/\text{ч}$ | Относительная транспирация |
|---------|----------------------------|------------------------------|--|------------------------------------|---|----------------------------|
|         |                            |                              |  |                                    |   |                            |

*Контрольные вопросы:*

1. Что такое транспирация и каково ее значение для растения?
2. В чем состоит принцип весового метода определения интенсивности транспирации?
3. Какие показатели используются для характеристики 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 -  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  - образуются органические вещества и выделяется молекулярный кислород. Поглощенная энергия света трансформируется в химическую энергию органических соединений.

Работа 3. Пигменты листа и их свойства

### I. Получение спиртового раствора пигментов

*Материалы и оборудование:* свежие или сухие листья различных растений, ступка с пестиком,  $\text{CaCO}_3$ , 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* ( $^{18}(\text{Mg})$  - 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 - порфириное 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. Хлорофилл *b* 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.

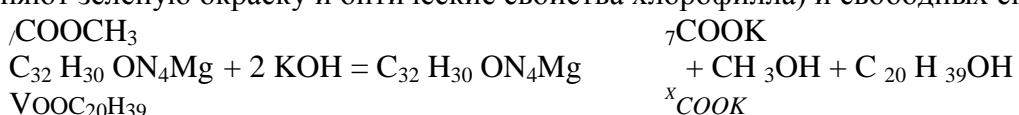
*Вводные пояснения.* Разделение пигментов основано на их различной растворимости в полярных и неполярных растворителях, например, в спирте и бензине. Эти растворители не смешиваются, образуя два слоя - верхний, бензиновый, и нижний, спиртовой.

*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),  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{P}$ , 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 замещается 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 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

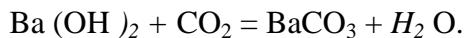
Дыхание представляет собой окислительный распад органических веществ, синтезированных в процессе фотосинтеза, протекающий с потреблением кислорода и выделением углекислого газа. Этот процесс присущ всем живым организмам. Жизнь любого организма связана с непрерывным использованием энергии, выделяющейся 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.

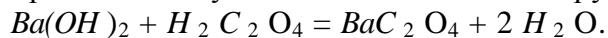
Работа 4. Определение интенсивности дыхания по количеству выделенного  $\text{CO}_2$

*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  $\text{CO}_2$ , 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  $\text{CO}_2$  в замкнутый сосуд помещают навеску исследуемого материала и определенное количество щелочи. Выделенный в процессе дыхания  $\text{CO}_2$  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  $\text{CO}_2$ , 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  $\text{CO}_2$ .

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  $\text{CO}_2$ . Желательно поэтому подобрать такую экспозицию, чтобы на связывание  $\text{CO}_2$  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  $\text{BaCO}_3$ , препятствующую полноте поглощения  $\text{CO}_2$ , 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, титрование проводят через резиновую пробку с двумя отверстиями, одно из которых закрыто трубкой с натронной известью, а в другое плотно вставлен конец бюретки.

В контрольной колбе  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  можно 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) <sub>2</sub> в колбе, мл | Продолжительность опыта, час | Пошло H <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> , мл |      | Интенсивность дыхания, мг/г час |
|---------|----------------|--|------------------------------|---|------|---------------------------------|
|         |                |  |                              | контроль  | опыт |                                 |
|         |                |  |                              |   |      |                                 |

Расчет интенсивности дыхания проводят по формуле:

$$\frac{(a - b)K}{m t} 2,2$$

где  $a$  - количество H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, пошедшее на титрование Ba(OH)<sub>2</sub> в контрольной колбе, мл;

$b$  - количество H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, пошедшее на титрование Ba(OH)<sub>2</sub> в опытной колбе, мл;

$K$  - поправка к титру H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>;

2,2 - количество мг CO<sub>2</sub>, эквивалентное 1 мл 0,1 н H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>,

$m$  - 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 5. Микрохимический анализ золы

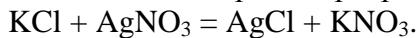
*Материалы и оборудование:* зола, дистиллированная вода, 10%-й раствор соляной кислоты, 1%-й раствор серной кислоты, 10%-й раствор аммиака, 1%-й раствор фосфорнокислого натрия, 1%-й раствор молибденовокислого аммония в 1%-м растворе азотной кислоты, 1%-й раствор желтой кровяной соли, пробирки (2 шт.), 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 элементов. 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 реактивов, 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 ( $1/4$  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 реактива на расстоянии 2-3 мм друг от друга, затем соединяют их тонким дугообразным канальцем. В месте соединения произойдет реакция, а по краям канальца - быстрая кристаллизация продуктов реакции. Кристаллический осадок рассматривают под микроскопом.

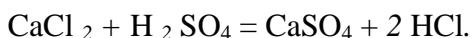
В водном растворе обнаруживают растворимые в воде хлориды. Реактивом служит азотнокислое серебро, результат - белые хлопья хлорида серебра. Реакция:



TL W W

В вытяжке с соляной кислотой открывают:

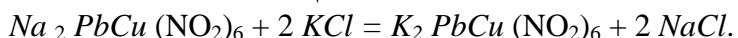
1. Кальций. Реактив - 1%-й раствор серной кислоты. Выпадают пучки игольчатых кристаллов гипса. Реакция:



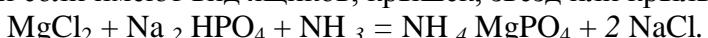
2. Калий. Реактив - 1%-й раствор  $PtCl_4$ . Получается хлороплатинат калия, в виде желто-зеленых октаэдров и других кристаллов правильной системы. Реакция:



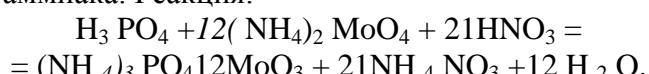
Для обнаружения калия может быть использован раствор ком - плексной соли  $Na^+bC^+NO^-$ . При этом образуются свинцово-черные и темно-коричневые кристаллы свинцово-медного азотнокислого калия. Реакция:



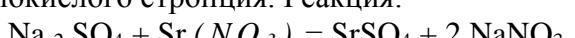
1. Магний. Каплю испытуемого раствора сначала нейтрализуют аммиаком, а затем соединяют с каплей 1%-го раствора фосфорнокислого натрия. Кристаллы фосфорно-аммиачно-магнезиальной соли имеют вид ящиков, крышек, звезд или крыльев. Реакция:



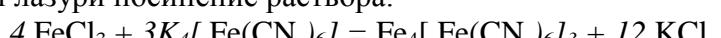
2. Фосфор. Реактив - 1%-й раствор молибденовокислого аммония в 1%-м растворе азотной кислоты. Получается зеленовато-желтый скрытокристаллический осадок фосфорно-молибденового аммиака. Реакция:



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.

## Раздел 7

### ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

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 отдельной 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 6. 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 йода в КІ, 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 сферокристаллы 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 восстановляющих 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 принцип положен в основу обнаружения запасных веществ?
2. Какие растительные объекты используют для обнаружения запасных веществ?

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 7. 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 воды (контроль). 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

$$P = — 100\%.$$

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?

**3. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ  
ПО ПРОВЕДЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ**

Не предусмотрено РУП.

**4. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ  
ПО ПРОВЕДЕНИЮ СЕМИНАРСКИХ ЗАНЯТИЙ**

Не предусмотрено РУП.