

МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ, ФИЗИОЛОГИЯ СТРЕССА И АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ

*Рекомендовано Учебно-методическим объединением
по естественнонаучному образованию
в качестве учебно-методического пособия
для студентов учреждения высшего образования, обучающихся
по специальностям 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)»,
1-31 01 02 «Биохимия», 1-31 01 03 «Микробиология»*

УДК 581.1(075.8)
ББК 28.57я73
М57

Авторы:

**В. М. Юрин, В. В. Демидчик, Г. Г. Филиппова,
А. П. Кудряшов, О. Г. Яковец, Т. И. Дитченко,
И. И. Смолич, О. В. Молчан**

Рецензенты:

кандидат биологических наук *Ж. Э. Мазец*;
кандидат биологических наук *Ж. Н. Калацкая*

Минеральное питание, физиология стресса и адаптации растений : учеб.-метод. пособие / В. М. Юрин [и др.]. — Минск : БГУ, 2014. — 103 с.

ISBN 978-985-518-980-1.

Приведены методические рекомендации, необходимые для выполнения лабораторных работ по разделам «Минеральное питание растений», «Физиология стресса и адаптации растений», а также примеры решения задач по курсу «Физиология растений».

Для студентов учреждения высшего образования, обучающихся по специальностям 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)», 1-31 01 02 «Биохимия», 1-31 01 03 «Микробиология».

**УДК 581.1(075.8)
ББК 28.57я73**

ISBN 978-985-518-980-1

© БГУ, 2014

ПРЕДИСЛОВИЕ

Разделы «Минеральное питание растений», «Физиология стресса и адаптации растений» — классические в курсе «Физиология растений». Они затрагивают такие фундаментальные темы, как классификация и физиологическая роль элементов минерального питания растений, процессы их поглощения, механизмы перераспределения и реутилизации, реакция растительного организма на действие неблагоприятных абиотических и биотических факторов, его адаптация к изменившимся условиям существования. В значительной степени проводимые в рамках обозначенных тем исследования способствуют развитию научных основ сельского хозяйства, экологии, биотехнологии и биоинженерии. Подготовка специалистов в этих сферах требует теоретических и практических знаний самого высокого уровня.

Настоящее издание является частью учебно-методического комплекса по курсу «Физиология растений» и включает соответствующие разделам курса главы: «Минеральное питание растений», «Физиология стресса и адаптации растений», — в которых приведены теоретические данные, методические рекомендации, необходимые для выполнения лабораторных работ по указанным разделам, вопросы и задания для самоконтроля, а также главу «Примеры решения задач по курсу “Физиология растений”». Приложение содержит типовую учебную программу по дисциплине, перечень основных понятий и определений, сведения по приготовлению буферных растворов. В книге лабораторных работ представлено больше, чем можно выполнить за предусмотренное программой время, что позволяет преподавателю индивидуализировать процесс обучения студентов.

Цель данного учебно-методического пособия — закрепление и углубление теоретических знаний, полученных в ходе лекций, приобретение навыков в организации и проведении исследований в области минерального питания, стресса и механизмов адаптации растений, активизация самостоятельной работы и развитие творческого подхода к исследовательской деятельности. Выполнение лабораторных работ и заданий позволит сформировать у студентов целостную систему знаний о роли минеральных элементов в растении, механизмах их поступления и транспорта по растению, физиологических основах выращивания растений в искусственных условиях, а также о механизмах ответа растительного организма на неблагоприятные воздействия окружающей среды и клеточных основах стрессоустойчивости.

Авторы выражают глубокую благодарность рецензентам за конструктивный анализ и ценные критические замечания.

ГЛАВА 1

МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ

Минеральное питание растений как самостоятельное направление физиологии растений зародилось во второй половине XIX в., что определялось необходимостью решения двух основных вопросов: какие элементы минерального питания необходимы для жизнедеятельности растений и каким образом они поступают в растительный организм. Существенный прогресс в развитии данного направления обусловлен разработкой вегетационного метода, который стал основным подходом в изучении потребности растений в тех или иных минеральных элементах и их физиологических функциях.

Любой химический элемент, присутствующий в среде обитания, может быть обнаружен и в растении, однако химический состав растения не отображает его потребности в питательных веществах. К началу XX в. было выяснено, что для нормального развития и жизнедеятельности растительных организмов им необходимы семь элементов минерального питания: N, P, S, K, Ca, Mg и Fe. Позже была установлена потребность растений еще в пяти элементах: Cu, Mn, Mo, Zn и B. Эти элементы играют определенную роль в обмене веществ всех растительных организмов, и при отсутствии одного из них жизнь была бы невозможна.

В 1939 г. было сформулировано тройное правило Арнона, согласно которому элемент признается необходимым в случае, если: 1) растение без него не может закончить свой жизненный цикл; 2) другой элемент не может заменить функцию изучаемого элемента; 3) элемент непосредственно включен в метаболизм растения.

На основе количественной потребности и содержания в растениях минеральные элементы подразделяют на макро- и микроэлементы. Питательные элементы, которые поглощаются растениями из субстрата в больших количествах (содержание их в золе более 0,1–0,01 %), называют *макроэлементами*, а необходимые в значительно меньшем количестве (содержание в золе ниже 0,001 %) – *микроэлементами*.

К макроэлементам относятся К, Са, Mg, N, P, S, для галофитов в данную группу следует добавить Na и Cl. К микроэлементам относятся Mn, Zn, Cu, В, Мо, Cl. По своим количественным параметрам в растении Fe располагается на границе макро- и микроэлементов. Водорослям необходим один или несколько из следующих элементов: Со, Si, I, V. Некоторым высшим растениям требуются Se и Si.

Особенностью минерального обмена растений является накопление минеральных элементов в растительных тканях в значительно больших концентрациях, чем во внешней среде. Минеральные элементы составляют около 4 % массы сухого вещества растения (примерное содержание: N – 1,5 %, К – 1 %, Са – 0,5 %, Mg – 0,2 %, P – 0,2 %, S – 0,1 %). Однако эти показатели сильно варьируют в зависимости от видовой принадлежности растения, анализируемого органа, а также состава почвы, на которой росли растения, и условий увлажнения.

Ниже показано развитие научных представлений и основополагающих практических разработок в области минерального питания растений (табл. 1).

Таблица 1

Развитие теории и практики минерального питания растений

Исследователи, внесшие наиболее весомый вклад	Годы жизни	Суть теорий, концепций и практических знаний
Аристотель	384–342 гг. до н. э.	Дано представление о поглощении растениями пищи из почвы в виде сложных веществ
Я. Б. Гельмонт	1579–1644	Сделано заключение о том, что растения потребляют перерабатываемые ими вещества с помощью корней и строят свое тело из воды – теория водного питания растений
А. Тэер	1752–1829	Создана гумусовая теория питания растений – положительное значение органического вещества и отрицание значения минеральных элементов

Исследователи, внесшие наиболее весомый вклад	Годы жизни	Суть теорий, концепций и практических знаний
Ю. Либих	1803–1873	Сформулирована теория минерального питания растений, способствовавшая широкому внедрению минеральных удобрений в земледелии
Н. Т. Соссюр	1767–1845	Проведена систематизация данных и сделан вывод о том, что почва является источником азота и минеральных элементов. Показано, что минеральные вещества поступают в растение через корни
Ж. Б. Буссенго	1802–1887	Установлена способность бобовых растений связывать атмосферный азот и обогащать им почву — основа научного растениеводства
И. Кноп Ю. Сакс	1817–1900 1832–1897	Доказана необходимость минеральных элементов для питания растений и выделены среди них особо важные элементы
Г. Г. Гельригель	1831–1895	Экспериментально доказано, что процесс усвоения азота бобовыми культурами связан с деятельностью микроорганизмов на корневой системе этих растений
К. К. Гедройц	1872–1932	Обосновано учение о почвенном поглощающем комплексе
В. Остерхаут	1871–1964	Разработаны основные представления об избирательной проницаемости клеточной оболочки для ионов. Использование электрофизиологических приемов для изучения транспорта ионов в растительную клетку
В. И. Вернадский	1863–1945	Заложены основы учения о роли микроэлементов в почвах
С. Н. Виноградский	1856–1953	Открыта анаэробная фиксация азота микроорганизмами и выяснена их роль в превращениях гумусовых веществ

Исследователи, внесшие наиболее весомый вклад	Годы жизни	Суть теорий, концепций и практических знаний
Д. Н. Прянишников	1865–1948	В основу химизации сельского хозяйства и оптимизации состава удобрений с учетом физиологических свойств видов сельскохозяйственных растений положены научные труды о корневом питании растений
Д. А. Сабинин	1889–1951	Выявлена кардинальная роль биологических мембран в организации структуры протопласта и механизмах поступления веществ в клетку
Д. Б. Вахмистров	1931–2001	Предложена пространственная организация систем ионного транспорта в корне растений
Р. К. Саляев	род. в 1931 г.	Выполнены комплексные исследования вакуолярных мембран и изучены механизмы транспорта метаболитов и ионов через растительную мембрану
М. Н. Гончарик В. М. Юрин	1899–1986 род. в 1938 г.	Проведено детальное описание транспортных систем плазматической мембраны растительных клеток: калиевые, хлорные, кальциевые, неселективные ионные каналы, электрогенная H^+ -АТФазная помпа

1.1. СОДЕРЖАНИЕ И РОЛЬ МИНЕРАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В РАСТЕНИИ

Растения способны поглощать из окружающей среды практически все элементы периодической системы Менделеева. Однако для нормальной жизнедеятельности растительных организмов требуется лишь определенная группа основных питательных элементов, функции которых не могут быть заменены другими элементами. Среди таких питательных элементов углерод, водород и кислород, составляющие 45; 6,5; 42 % сухой массы соответственно и поступающие в растения в виде CO_2 и H_2O . В данном разделе физиологии растений они рассматриваться не будут. Тем не менее углерод, водород и кислород, а также азот называют органогенными элементами растения. Остальные элементы минерального питания относят-

ся к зольным веществам. Поэтому о минеральном составе растений чаще всего судят по анализу золы, остающейся после сжигания органического вещества растений. Количество золы в разных органах растений неодинаково. Меньше всего ее содержится в древесине (около 1 %), корнях и стеблях травянистых растений — 4–5 %, листьях — 10–15 %, а больше всего в семенах (около 30 %). Химический состав золы растений разнообразен. В табл. 2 приведен состав основных зольных элементов некоторых сельскохозяйственных растений.

Таблица 2

**Состав золы различных сельскохозяйственных растений,
% общего количества золы¹**

Объект	Состав золы								
	K ₂ O	Na ₂	CaO	MgO	Fe ₂ O ₃	P ₂ O ₅	SO ₂	SiO ₂	Cl
Семена									
Пшеница	30,2	0,6	3,5	13,2	0,6	47,9	—	0,7	—
Кукуруза	29,8	1,1	2,2	15,5	0,8	45,6	0,8	2,1	0,9
Фасоль	41,5	1,1	5,0	7,1	0,5	38,9	3,4	0,6	1,8
Стебли и листья									
Пшеница	13,6	1,4	5,8	2,5	0,6	4,8	—	67,4	—
Кукуруза	27,2	0,8	5,7	11,4	0,8	9,1	—	40,2	—
Клевер	27,2	0,8	29,3	8,3	0,6	10,7	—	6,2	—
Гречиха	46,6	2,2	18,4	3,6	—	11,2	—	5,5	—
Клубни и корни									
Картофель	60,0	3,0	2,6	4,9	1,1	16,9	6,5	2,1	3,4
Сахарная свекла	53,1	8,9	6,1	7,9	11,1	12,2	4,2	2,3	4,8

Заметно, что семена богаче фосфором и калием, стебли и листья — кальцием и кремнием, корни и клубни — калием. Кроме того, данные, представленные в табл. 2, демонстрируют особенности химического состава различных видов растений. Так, вегетативные органы злаковых растений накапливают огромное количество кремния, в то время как в клевере и гречихе преобладают калий и кальций. В составе золы могут присутствовать и другие элементы, находящиеся в почве даже в чрезвычайно малых количествах, например иод, серебро, золото, германий. Некоторые элементы могут накапливаться в растениях до токсического уровня (Al, Ni, Se, Pb, Cd, F и др.).

Физиологические функции минеральных элементов и форма их поступления в клетку приведены в табл. 3.

¹ Максимов Н. А. Краткий курс физиологии растений. 9-е изд., перераб. М., 1958.

Таблица 3

Физиологические функции минеральных элементов

Элемент	Форма, поступающая в клетку	Физиологические функции	Заболевания, связанные с недостатком элемента
Азот	Нитрат (NO_3^-), аммоний (NH_4^+)	Синтез белков, нуклеиновых кислот и других органических соединений, в частности коэнзима А и хлорофилла	Угнетение роста; сильный хлороз, особенно у старых листьев
Фосфор	Фосфат (HPO_4^{2-}), ортофосфат (H_2PO_4^-)	Синтез нуклеиновых кислот, АТФ, ГТФ, НАДН и НАДФН. Фосфорилирование белков. Входит в состав фосфолипидов мембран, промежуточных продуктов C_3 -цикла, окислительного пентозо-фосфатного цикла, гликолиза. Играет ключевую роль в переносе энергии	Угнетение роста, особенно корней. Сине-зеленая (фиолетовая) окраска листьев
Сера	Сульфат (SO_4^{2-})	Входит в состав аминокислот, витамина B_1 . Синтез белков и многих органических соединений, например коэнзима А, тиоредоксина, сульфолипидов. Составной компонент переносчиков электронов в ЭТЦ дыхания и фотосинтеза	Хлороз молодых листьев. Торможение роста, особенно корней
Калий	K^+	Осмотический компонент клеточного сока, основной потенциалопределяющий ион, активатор или кофактор многих ферментов, включая АТФазы, гексокиназы, ферменты цикла Кребса	Пожелтение и побурение листьев с краев, преждевременная гибель растений

Продолжение табл. 3

Элемент	Форма, поступающая в клетку	Физиологические функции	Заболевания, связанные с недостатком элемента
Магний	Mg^{2+}	Стабилизирует структуру рибосом, мембран. Входит в состав молекулы хлорофилла. Неспецифичный кофактор многих ферментов, участвующих в дыхании, фотосинтезе, синтезе нуклеиновых кислот	Межжилковый хлороз, раннее опадение листьев, слабый рост, задержка цветения
Кальций	Ca^{2+}	Стабилизирует структуру мембран. Участвует в формировании срединной пластинки (пектат кальция) клеточной стенки и связывании ДНК с белками. Является кофактором ряда ферментов, участвующих в гидролизе АТФ и фосфолипидов, активатором хлорных каналов. Является вторичным мессенджером и участвует в передаче внутриклеточных сигналов	Подавление роста, снижение прочности хромосом
Железо	Fe^{2+}	Входит в состав цитохромов и железосерных белков, ферредоксинов, являющихся переносчиками электронов в ЭТЦ фотосинтеза и дыхания. Составная часть геминных ферментов – пероксидазы, каталазы. Катализирует первичные реакции синтеза хлорофилла	Сильный хлороз, особенно у молодых листьев, опадение бутонов, отмирание точки роста

Элемент	Форма, поступающая в клетку	Физиологические функции	Заболевания, связанные с недостатком элемента
Марганец	Mn^{2+}	Принимает участие в фотоллизе воды и восстановлении CO_2 при фотосинтезе. Увеличивает содержание сахаров и их отток из листьев. Активирует некоторые дегидрогеназы, декарбоксилазы и другие ферменты, необходимые для функционирования нитратредуктаз. Является кофактором РНК-полимеразы, ауксиноксидазы	Пятнистость листьев, связанная с разрушением хлорофилла. Сворачивание листьев, замедление роста
Цинк	Zn^{2+}	Составная часть алкоголь-дегидрогеназы, глутамат-дегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, гексокиназы, щелочной фосфатазы и других ферментов, участвует в расщеплении белков. Необходим для образования ИУК	Светло-зеленая окраска вдоль основных жилок, деформация листьев, торможение роста
Медь	Cu^{2+}	Входит в состав аскорбиноксидазы, тирозиназы, лактазы, моноамино-оксидазы, уреазы, цитохромоксидазы, галактооксидазы. Обеспечивает терминальный перенос электронов в ЭТЦ дыхания и перенос электронов в ЭТЦ фотосинтеза. Влияет на биосинтез хлорофилла	Темно-зеленые молодые листья с некротическими пятнами. Отмирание побегов

Продолжение табл. 3

Элемент	Форма, поступающая в клетку	Физиологические функции	Заболевания, связанные с недостатком элемента
Молибден	MoO_4^{2-}	Входит в состав нитратредуктазы (восстановление нитрата до нитритов в процессе синтеза аминокислот), участвует в фиксации атмосферного азота, фосфорном обмене, является активатором в реакциях аминирования	Слабое замедление роста, деформация побегов
Бор	HBO_3^{2-} , H_2BO_3^-	Играет важную роль в делении и растяжении клеток меристемы, синтезе нуклеиновых кислот. Участвует в процессе транспорта и обмена углеводов, улучшает обеспечение корней O_2 . Влияет на белковый, нуклеиновый, фенольный обмены и созревание семян	Аномальный рост и отмирание верхушечных меристем
Кобальт	Co^{2+}	Необходим для некоторых микроорганизмов, включая свободно живущие и симбиотические фиксаторы азота. Входит в состав витамина B_{12} и некоторых окислительно-восстановительных ферментов. Защищает хлорофилл от разрушения в темноте	Как и при недостатке азота
Хлор	Cl^-	Участвует в поддержании анион-катионного и осмотического балансов клетки. Необходим для фотосинтетических реакций, связанных с фотоокислением воды	Хлороз

Элемент	Форма, поступающая в клетку	Физиологические функции	Заболевания, связанные с недостатком элемента
Кремний	SiO_2	Необходим для жизнедеятельности лишь некоторых растений. Входит в состав клеточных стенок злаковых культур, увеличивая их устойчивость к полеганию и грибковым заболеваниям	Не проявляются

Лабораторная работа № 1 **Микрохимический анализ золы**

Вводные пояснения. Для определения химического состава золы проводят качественный анализ, позволяющий обнаружить отдельные элементы или ионы, входящие в состав того или иного растения либо его органа. В качественном химическом анализе проводятся реакции, которые сопровождаются каким-либо внешним эффектом — изменением окраски раствора, образованием осадка с характерным цветом или формой кристаллов, выделением газообразных продуктов.

При анализе неорганических катионов чаще всего применяют реакции, происходящие в водных растворах между определенными ионами и реагентом. По технике выполнения различают реакции в пробирке и микрокристаллоскопические, которые проводят на предметном стекле и о присутствии искомого соединения судят по форме образующихся кристаллов, рассматриваемых под микроскопом.

Проводя аналитическую реакцию, следует создать определенные условия для ее протекания: кислотность среды и температуру раствора. При выполнении работ необходимо помнить, что каждая аналитическая реакция характеризуется чувствительностью, или пределом обнаружения, а также специфичностью.

Цель работы: провести химические реакции для обнаружения в зольной вытяжке кальция, магния, фосфора и железа.

Материалы и оборудование: световой микроскоп; пробирки объемом 10 мл; воронки; бумажные фильтры; предметные стекла; стеклянные палочки; пипетки; препаровальные иглы; раствор аммиака; 10 %-й HCl ; 10 %-й HNO_3 ; 1 %-й H_2SO_4 ; 1 %-й Na_2HPO_4 ; 1 %-й $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$; 1 %-й $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Ход работы. В пробирку поместить небольшое количество золы и залить примерно четырехкратным объемом 10 %-го раствора HCl , затем аккуратно перемешать. Полученный раствор отфильтровать через фильтровальную бумагу в чистую пробирку. Химические реакции на наличие кальция, магния и фосфора провести микрокристаллоскопическим способом. Для этого тупым концом стеклянной палочки (пипеткой) нанести на предметное стекло каплю раствора и на расстоянии 4–5 мм от нее – каплю соответствующего реактива. Затем концом стеклянной палочки (препаровальной иглой) соединить капли. В месте соединения растворов произойдет реакция и образование характерных кристаллов, которые нужно рассмотреть под микроскопом. (Иногда для увеличения скорости реакции предметное стекло слегка нагревают на спиртовке.) Стеклянные палочки после нанесения каждого реактива необходимо вымыть и вытереть фильтровальной бумагой.

Реактивом на ион кальция служит 1 %-й раствор H_2SO_4 . При этом хлорид кальция, содержащийся в зольной вытяжке, реагирует с серной кислотой, и образуются крупные кристаллы гипса игольчатой формы в виде сросшихся пучков (рис. 1, 2):

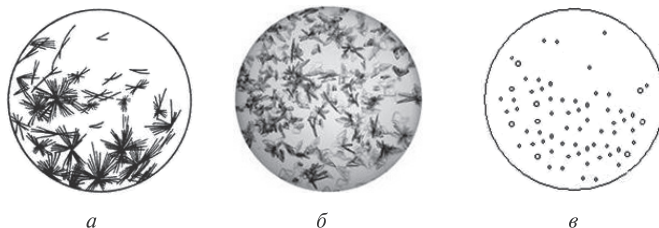
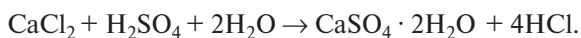


Рис. 1. Внешний вид кристаллов гипса $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (а), фосфорноаммиачномагнезиальной соли (б), фосфорномолибденовокислого аммония (в) под световым микроскопом

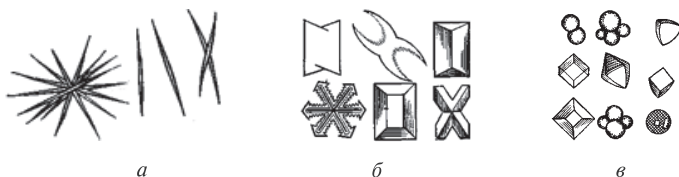
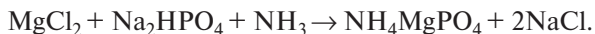
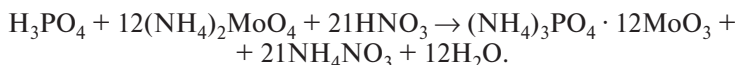


Рис. 2. Наиболее распространенные варианты формы кристаллов гипса (а), фосфорноаммиачномагнезиальной соли (б) и фосфорномолибденовокислого аммония (в)

Для обнаружения магния к капле полученной зольной вытяжки следует вначале добавить каплю раствора аммиака, а затем соединить полученный раствор с 1 %-м фосфорнокислым натрием. В результате реакции образуется фосфорноаммиачномагнезильная соль, кристаллизующаяся в виде прямоугольников, звездочек, крыльев (см. рис. 1, 2):

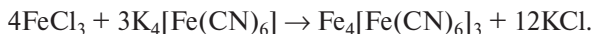


Для обнаружения фосфора соединить каплю вытяжки с 1 %-м раствором молибдата аммония в азотной кислоте. Получается зеленовато-желтый осадок фосфорномолибденовокислого аммония:



Под световым микроскопом данный осадок виден в форме мелких шариков и многогранников желтого цвета (см. рис. 1, 2).

Реакцию на железо рекомендуется проводить в пробирке, для этого к остатку зольной вытяжки следует добавить по каплям раствор желтой кровяной соли. В результате реакции образуется темно-синий осадок (берлинская лазурь):



Данная реакция проводится в слабокислых или нейтральных растворах (pH = 3–7), она строго специфична и позволяет обнаружить ион Fe^{3+} в присутствии других катионов.

Результаты работы оформить в виде рисунков кристаллов гипса, фосфорноаммиачномагнезильной соли и фосфорномолибденовокислого аммония. Записать уравнения реакций.

Контрольные вопросы

1. Какие элементы минерального питания относятся к макроэлементам? Каково их содержание в растениях?
2. Какие элементы минерального питания относятся к микроэлементам? Каково их содержание в растениях?
3. Перечислите специфические реакции на кальций, магний, фосфор и железо.

Лабораторная работа № 2

Обнаружение в золе макроэлементов

Вводные пояснения. К макроэлементам относятся калий, азот, фосфор, сера, кальций и магний. Это обязательные компоненты любой живой ткани. В растительном организме они выполняют субстратную и регуляторную роль. Субстратная роль данных элементов заключается в том, что они входят в состав органических веществ, являющихся строительным мате-

риалом клетки. Как составная часть мембран, ферментов, переносчиков электрон-транспортных цепей фотосинтеза и дыхания, аппарата синтеза белка элементы минерального питания регулируют скорость основных физиологических и биохимических процессов растений. Относительно высокое содержание макроэлементов в золе позволяет их легко обнаружить с помощью специфических химических реакций. Как упоминалось выше, по содержанию в растениях железо находится на границе между макро- и микроэлементами, поэтому в данной работе мы будем рассматривать реакцию и на железо. В отличие от предыдущей работы, предложенные ниже реакции проводятся в пробирках.

Цель работы: с помощью специфических реакций обнаружить в зольной вытяжке калий, кальций, фосфор, серу и железо.

Материалы и оборудование: зола; фарфоровые тигли; спиртовка; пробирки объемом 10 мл; воронки; бумажные фильтры; HNO_3 конц.; 10 %-й HNO_3 ; 5 %-я щавелевая кислота; 5 %-й HCl ; 1 %-й NaOH ; $\text{Na}_2\text{CO}(\text{NO}_2)_6$; NH_4NO_3 ; 10 %-й $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$; 10 %-й BaCl_2 ; 5 %-й NH_4CNS .

Ход работы. На начальном этапе следует получить кислотную зольную вытяжку. Для этого в фарфоровый тигель поместить около 1 г золы, прилить 1 мл концентрированной HNO_3 , аккуратно перемешать и добавить 10 мл воды, после чего нагреть содержимое пробирки до кипения, быстро отфильтровать горячий раствор от нерастворимых частиц угля и кремнезема через бумажный фильтр. Разделить фильтрат на две части. Одну часть разлить в три пробирки по 2–3 мл для открытия калия, фосфора и серы. Вторую часть вытяжки довести до слабой щелочной реакции раствором NaOH (рекомендуется использовать лакмусовую бумагу) и отфильтровать выпавший студенистый осадок, который возникает в результате образования нерастворимых $\text{Al}(\text{OH})_3$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ и $\text{Mn}(\text{OH})_2$. Этот осадок сохранить на фильтровальной бумаге для определения железа, а щелочной раствор после его нейтрализации слабым раствором HCl и подкисления несколькими каплями уксусной кислоты следует использовать для открытия кальция. С полученными растворами проделать реакции согласно табл. 4.

Таблица 4

Качественные реакции на присутствие определенных элементов минерального питания в золе растений

Тестируемый ион	Проведение реакции	Результат
K^+	Прибавить 0,5 мл кобальтнитрита натрия $[\text{Na}_2\text{CO}(\text{NO}_2)_6]$ и 2 мл этилового спирта. Оставить на 30 мин	Желтый осадок

Тестируемый ион	Проведение реакции	Результат
Ca^{2+}	Прибавить 1 мл 5 %-го раствора щавелевой кислоты	Белая муть или осадок
PO_4^{3-}	Внести кристалл NH_4NO_3 , нагреть до кипения и прибавить 1 мл 10 %-го водного раствора $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$	Золотисто-желтый осадок
SO_4^{2-}	Прибавить 1 мл 10 %-го раствора BaCl_2	Белая муть или осадок
Fe^{2+}	К осадку добавить 5 мл 10 %-го HNO_3 и прилить 2–3 капли 5 %-го NH_4CNS	Красное окрашивание

Результаты работы оформить в виде таблицы.

Контрольные вопросы

1. Какие элементы минерального питания относятся к зольным веществам, какие к органогенным?
2. Почему для анализа минеральных элементов в растении анализируется зола?
3. В каких органах растений содержание минеральных элементов наибольшее, в каких наименьшее?

Лабораторная работа № 3

Определение содержания азота и фосфора в почве

Вводные пояснения. Особое место в физиологии растительного организма отводится так называемым пластическим элементам, входящим в состав важнейших органических веществ. Большой удельный вес среди них принадлежит азоту и фосфору.

Азот — минеральный элемент, необходимый растению в наибольшем количестве. Как уже упоминалось выше, его содержание равно примерно 1,5 % сухого веса растения. Азот входит в состав всех аминокислот, а следовательно белков растений, являющихся важнейшей частью протопласта и выполняющих самые разнообразные функции. Азот — структурный компонент нуклеиновых кислот, полиаминов, АМФ, АДФ, АТФ, НАДН, НАДФН, хлорофилла и др. Таким образом, очевидно, что данный элемент представляет собой составную часть любой органеллы клетки.

Недостаток азота приводит к ингибированию синтеза аминокислот и других азотистых соединений, что, в свою очередь, тормозит рост расте-

ния. Особенно сильно дефицит азота сказывается на развитии и функциональной активности фотосинтетического аппарата вследствие нарушения синтеза хлорофиллов. У большинства видов растений при недостатке азотного питания наблюдается мелколистность и развивается хлороз: нижние листья становятся бледно-зелеными, затем желтыми и быстро засыхают. Корни растения быстро реагируют на недостаток азота в среде формированием дополнительных удлинённых корневых волосков. Это увеличивает радиус зоны почвы, из которой растение поглощает элементы минерального питания, и позволяет повысить количество всасываемого азота.

Избыток азота, особенно на заключительных этапах развития, также приводит к возникновению различных морфологических и биохимических нарушений. Например, у злаков происходит дополнительное кущение, поэтому ко времени уборки зерно не успевает созреть на всех побегах, и качество урожая падает. У сахарной свеклы снижается сахаристость, так как идет активный синтез аминокислот и белков. Овощные культуры накапливают большое количество нитратов, что часто негативно сказывается на качестве данной зеленой продукции. Избыточное внесение азота вызывает ухудшение цветения и плодообразования.

Фосфор также относится к числу важнейших макроэлементов, выполняющих как структурную, так и регуляторную функции. Фосфор входит в состав нуклеиновых кислот (ДНК, РНК). Он играет особо важную роль в энергетике клетки, поскольку именно в форме высокоэнергетических эфирных связей фосфора или пирофосфатных связей запасается энергия АТФ, ГТФ, НАДН и НАДФН. Фосфор — составная часть фосфолипидов, являющихся основным компонентом всех мембран клетки (50–60 % всех липидов). Различные фосфорсодержащие соединения выступают в качестве акцепторов углекислого газа в процессе фотосинтеза (рибулозобисфосфат и фосфоенолпируват), промежуточных продуктов C_3 -цикла фотосинтеза, окислительного пентозофосфатного цикла, гликолиза. Свободная фосфорная кислота необходима для окислительного и фотосинтетического фосфорилирования. Еще одной уникальной функцией фосфора является его участие в фосфорилировании и дефосфорилировании белков с помощью протеинкиназ и фосфорилаз. Этот процесс играет важнейшую роль в жизнедеятельности любой живой клетки, поскольку регулирует экспрессию генома, синтез РНК и белка, деление и дифференцировку клеток и др.

При недостатке фосфора происходит нарушение процессов дыхания и фотосинтеза, задержка синтеза белков и накопление сахаров. Активируются немитохондриальные системы окисления дыхательных субстратов. Из-за торможения процессов гликолиза и цикла Кребса образует-

ся меньше АТФ и других высокоэнергетических соединений, что вызывает торможение роста. Молодые листья становятся сине-зелеными, а старые начинают желтеть от краев к центру. На рост побегов и листьев дефицит фосфора влияет меньше, чем дефицит азота, в большей степени сказываясь на развитии корневой системы. При недостатке фосфора задерживается формирование плодов. Наиболее чувствительны к недостатку фосфора растения на ранних этапах роста и развития. Достаточное фосфорное питание в более поздний период ускоряет развитие растений (в противоположность азотному) и их устойчивость к неблагоприятным факторам.

Азотное питание растений происходит путем поглощения из почвы ионов NO_3^- , NH_4^+ как при помощи активных транспортеров, так и пассивно через ионные каналы. Фосфор поглощается в виде высшего окисла PO_4^{3-} , а также в виде ионов HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- практически исключительно активно. При их большом содержании в почве и интенсивном поглощении корнями часть ионов не успевает перерабатываться растением и может быть обнаружена в свободном виде в клеточном соке. В связи с вышесказанным, очевидна необходимость почвенной диагностики содержания основных элементов минерального питания. Определение запаса потенциально усвояемых форм минерального азота и фосфора в почве позволит скорректировать дозу вносимых удобрений, что обеспечит более эффективное их использование.

Цель работы: провести специфические реакции для обнаружения в почвенной вытяжке аммонийного и нитратного азота и фосфора.

Материалы и оборудование: несколько вариантов почвы; пробирки объемом 10 мл; воронки; бумажные фильтры; 5 %-й NaCl ; 0,2 н HCl ; BaSO_4 ; реактивы Брея, Неслера и Кирсанова; металлическое олово.

Ход работы. Образцы почвы перемешать и поместить в две пробирки, насыпая слоем около 1 см. Прилить в одну пробирку 5 мл 5 %-го раствора NaCl (солевая вытяжка), во вторую — 5 мл 0,2 н раствора HCl (кислотная вытяжка). В каждую из пробирок добавить по 1 г соли BaSO_4 для ускорения осветления растворов. Закрыв пробирки, встряхивать их в течение минуты, после чего дать растворам отстояться 10–15 мин. Полученные почвенные вытяжки пропустить через бумажные фильтры для образования прозрачных растворов. Солевую вытяжку разделить на две пробирки для определения нитратного и аммонийного азота. Кислотную вытяжку использовать для обнаружения доступных фосфатов. Провести специфические реакции согласно табл. 5.

Таблица 5

**Специфические реакции для анализа содержания нитратного
и аммонийного азота и фосфата в почве**

Вытяжка	Используемый реактив	Тестируемый ион	Окрашивание
Солевая	Брея (сухой)	NO_3^-	От розового до красного
Солевая	Неслера (сухой)	NH_4^+	От желтого до красно-бурого
Кислотная	Реактив Кирсанова. Добавить металлическое олово	PO_4^{3-}	От голубого до темно-синего

Реактивы всегда вносятся в одинаковом количестве: сухие — порциями с пшеничное зерно, жидкие — по 5 капель. Окраска пропорциональна количеству соответствующих ионов, содержание которых оценивается по системе: нет, мало, средне, много.

Установить относительное количество нитратов и фосфатов в различных образцах почвы. Результаты оформить в виде табл. 5.

Контрольные вопросы

1. Для чего необходим анализ почвы на содержание минеральных элементов?
2. Какова роль азота и фосфора в растениях?
4. В каком виде азот и фосфор поступают в растения?

Лабораторная работа № 4

Обнаружение нитратов в растениях

Вводные пояснения. В состав органических соединений растений входит только аммонийный азот, следовательно соли азотной кислоты (нитраты), поглощаемые корнями из почвы, должны восстанавливаться в клетках до аммиака. Происходит это через ряд этапов, каждый из которых катализирует особый фермент. На первом этапе осуществляется восстановление нитрата до нитрита, сопряженное с переносом двух электронов и катализируемое ферментом *нитратредуктазой* ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$). На втором этапе происходит восстановление нитрита до аммиака, сопряженное с переносом шести электронов и катализируемое ферментом *нитритредуктазой* ($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_4^+$).

Аммиак связывается кетокислотами (α -кетоглутаровой, щавелево-уксусной и пировиноградной), образуя в процессе восстановительного аминирования первичные аминокислоты — глутаминовую, аспарагиновую и аланин. Другие аминокислоты образуются путем трансаминирования или ферментативного превращения одних аминокислот в другие.

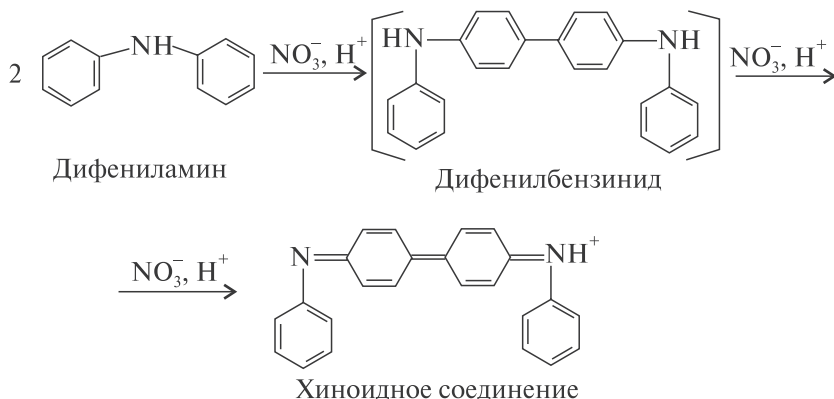
При достаточном содержании растворимых углеводов и высокой активности соответствующих ферментов перечисленные биохимические процессы происходят в корнях. Однако часть нитратов (нередко весьма значительная) может пройти через паренхиму корня в неизменном виде. В этом случае нитраты попадают в сосуды ксилемы и поднимаются с восходящим током к листьям, где и происходит их восстановление. Для восстановления нитратов требуется АТФ, образующийся в процессе окислительного фосфорилирования или фотофосфорилирования.

Определение содержания нитратов в соке, отжатом из стеблей или черешков, позволяет судить об активности процессов восстановления нитратов в корнях: чем меньше обнаруживается ионов NO_3^- в соке, тем полнее проходит этот процесс в клетках корня. Сопоставление содержания нитратов в черешках и листовых пластинках дает представление о нитратредуктазной активности клеток мезофилла. Для обнаружения нитратов можно использовать реакцию с дифениламином, который в присутствии иона NO_3^- образует синюю анилиновую краску. По интенсивности окраски можно судить о количестве нитратов в исследуемом объекте.

Цель работы: провести сравнительный анализ содержания нитратов в различных органах растений.

Материалы и оборудование: листья; клубни и луковицы; белая фарфоровая пластинка с лунками; стеклянные палочки; 1 %-й раствор дифениламина в концентрированной серной кислоте.

Ход работы. Выдавить сок из различных органов растений (клубни картофеля, корни, листья и черешки, луковицы) в лунки на фарфоровой пластинке. Добавить 1–2 капли раствора дифениламина ($(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{NH}$) в концентрированной серной кислоте. Этот раствор должен быть прозрачным или иметь слегка голубоватый оттенок. Нитрат-ион с раствором дифениламина в концентрированной серной кислоте дает ярко-синее окрашивание, обусловленное образованием хиноидного соединения — продукта окисления дифениламина.



По интенсивности окраски можно судить о наличии нитратов в соке исследуемых культур. Желательно проанализировать растения одного вида, произраставшие в разных условиях (до и после подкормки минеральными удобрениями и т. п.). Результаты оформить в виде таблицы (пример оформления см. ниже), оценивая интенсивность окраски по пятибалльной шкале.

Пример оформления таблицы

Растение	Орган	Условия выращивания	Интенсивность окраски

На основании результатов проведенных опытов сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Перечислите этапы преобразования нитратов в растениях.
2. В каких органах растений могут происходить эти реакции?
3. Чем опасно накопление нитратов в растениях?

1.2. ПОСТУПЛЕНИЕ ЭЛЕМЕНТОВ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ В РАСТЕНИЕ

Изучение вопроса транспорта макро- и микроэлементов — одна из основных проблем минерального питания растений. Это предопределяется следующими обстоятельствами: во-первых, суть питания растений состоит в поглощении и включении в их метаболизм минеральных эле-

ментов в результате обмена между организмом и средой. Во-вторых, изучение процесса транспорта элементов сопряжено с изучением свойств и функций клеточной стенки, плазматической мембраны, связи между клетками и тканями. В-третьих, выяснение вопросов, связанных с транспортом, приближает нас к целенаправленному управлению продуктивностью сельскохозяйственных растений и созданию условий поддержания биоразнообразия.

Элементы минерального питания обычно поглощаются из почвы с помощью корневой системы. Минеральные вещества поступают в растения в форме ионов. Ионы должны пересечь клеточную стенку и плазматическую мембрану, чтобы попасть в цитоплазму, затем, при необходимости, пройти через мембрану, окружающую вакуоль (тонопласт) или клеточную органеллу, чтобы оказаться в том или ином внутреннем компартменте (рис. 3).

В настоящее время общеприняты представления о том, что минеральные вещества в виде ионов преодолевают мембраны растительной клетки несколькими способами, основные из которых следующие:

1. Диффузия через липидную фазу. Идет крайне медленно, так как липидный бислой очень плохо пропускает ионы (по градиенту электрохимического потенциала).

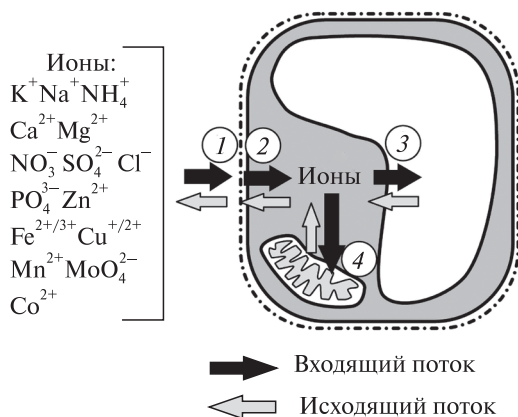


Рис. 3. Поступление элементов минерального питания в растительную клетку:

- 1 – взаимодействие с анионными локусами в клеточной стенке;
- 2 – переход через плазматическую мембрану в цитоплазму;
- 3 – переход через тонопласт в вакуоль;
- 4 – переход через эндомембраны внутрь органелл

2. Облегченная диффузия при помощи ионных каналов. Это быстрый процесс, так как ионы свободнее движутся через пору канала, имитирующую гидратную оболочку (происходит по градиенту электрохимического потенциала).

3. Перенос веществ с участием транспортеров и помп. Использует энергию АТФ или энергизируется разницей электрохимических потенциалов H^+ , Na^+ , K^+ , других ионов. Идет медленнее, чем диффузия через ионные каналы, но значительно быстрее, чем диффузия через липидную фазу. Может происходить как по градиенту электрохимического потенциала, так и против него.

4. Эндоцитоз. Представляет собой захват внешнего материала клеткой, осуществляемый путем инвагинации плазматической мембраны и формирования везикул, в дальнейшем утилизируемых внутри клетки. Является малоизученным в плане ионного транспорта процессом.

Имеются данные, что при загрузке элементов питания в семя роль эндоцитоза может быть весьма значительной.

Что касается движущих сил мембранного транспорта, то различают два механизма. *Пассивный транспорт* — перемещение веществ путем диффузии по градиенту электрохимического потенциала без затрат метаболической энергии. *Активный транспорт* — перемещение веществ против градиента электрохимического потенциала с затратой метаболической энергии, как правило, в форме АТФ.

Пассивное движение элементов минерального питания через плазматическую мембрану растительных клеток происходит через ионные каналы, представляющие собой трансмембранные белковые макромолекулы, состоящие из 2—4 субъединиц и формирующие пору в липидном бислое мембраны. В настоящее время в мембранах растительных клеток на физиологическом уровне идентифицировано несколько типов проводимостей, соответствующих Ca^{2+} -, Na^+ -, K^+ -, неселективным катионным и анионным каналам.

Расшифрованные геномы высших растений содержат примерно от 100 до 200 генов различных ионных каналов. Практически все гены активно экспрессируются в разных типах клеточных мембран. Около 80 % данных генов кодируют катионные каналы. Это, вероятно, связано с тем, что отрицательный по величине мембранный потенциал на плазматической мембране способствует поступлению катионов по градиенту электрохимического потенциала, т. е. по ионным каналам, в отличие от анионов, входу которых он противодействует. В связи с этим для анионов более характерен активный способ поступления в клетку, при том что их выход практически всегда осуществляется пассивно (через анионные каналы) по градиенту электрохимического потенциала. Выход анионов — важный процесс, необходимый для их перераспределения в организме,

регуляции электрического потенциала мембраны и осмотического давления клетки. В транспорте минеральных элементов также большое значение имеют тонопласт и другие эндомембраны, которые, как и плазматическая мембрана, содержат каналы, служащие для перераспределения ионов внутри клетки.

В табл. 6 приведена информация об идентифицированных на сегодня семействах генов катионных каналов высших растений на примере модельного объекта *Arabidopsis thaliana* L. Heynh.

Следует отметить, что геномы водорослей имеют отличные от высших растений семейства генов ионных каналов, более близкие эволюционно и структурно к ионным каналам животных.

Наиболее хорошо к настоящему времени изучен K^+ -канал типа Shaker, вероятно присутствующий у всех высших и низших растений и выполняющий важнейшую роль для транспорта ионов калия. В 2003 г. Фредерик Маккиннон получил Нобелевскую премию по химии за расшифровку структуры данного белка. Структура Shaker-канала представлена на рис. 4.

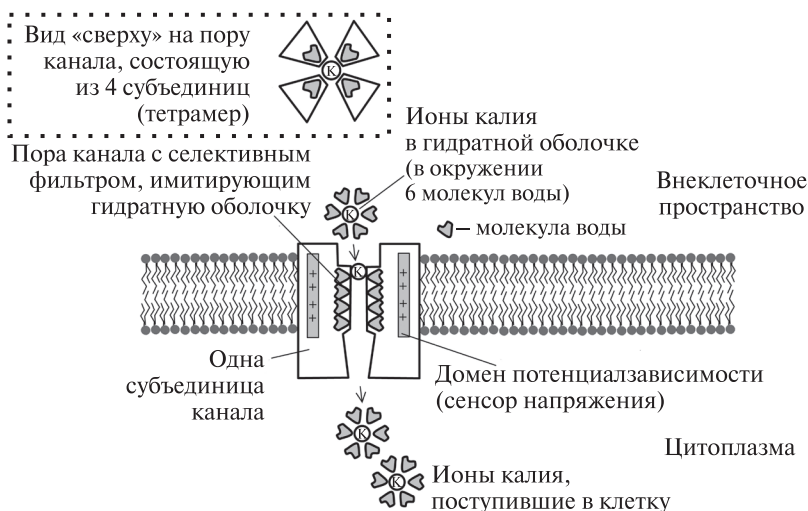


Рис. 4. Схема строения катионного канала мембран растений, проницаемого для ионов K^+

Канал имеет водную пору, которая образуется специальным участком каждой из 4 субъединиц канала. Одна субъединица состоит из 6 трансмембранных доменов. Пору имитирует гидратную оболочку иона калия, ближайший слой которой состоит из 6 молекул воды. Наличие домена

из 3–4 аминокислот (Глицин – Тирозин – Глицин – Аспартат: GYGD) в поре канала определяет его K^+ -селективность, а специальный S4-домен в каждой из субъединиц (так называемый сенсор напряжения) поворачивается при изменении напряжения, обеспечивая активацию и инактивацию канала при изменении разности электрических потенциалов на мембране.

Таблица 6

**Семейства генов катионных каналов *Arabidopsis thaliana* L. Heynh
и структурная организация их продуктов**

№ п/п	Наименование семейства каналов (на основе схожести структуры и эволюционного происхождения)	Кол-во генов	Особенности структуры
K^+-селективные катионные каналы (15 генов)			
1	K^+ -селективные Шейкеры	9	Тетрамер, 6 трансмембранных доменов, 1 поровый сайт, K^+ -селективный фильтр (GYGD-домен), домен потенциалзависимости
2	K^+ -селективные каналы с тандемной порой	6	Димер, 4 трансмембранных домена, 2 поровых сайта, K^+ -селективный фильтр (GYGD-домен), домен потенциалзависимости отсутствует
Неселективные катионные каналы (41 ген)			
1	Ионотропные глутаматные рецепторы	20	Тетрамер, 3 трансмембранных домена, 1 поровый сайт, один наружный сайт активации аминокислотами, селективный фильтр неизвестной структуры, домен потенциалзависимости не определен
2	Каналы, активирующиеся циклическими нуклеотидами	20	Тетрамер, 6 трансмембранных доменов, 1 поровый сайт, селективный фильтр неизвестной структуры, домен потенциалзависимости
3	Двухпоровый канал	1	Димер, 12 трансмембранных доменов, 2 поровых сайта, селективный фильтр, проницаемый для Ca^{2+} и Na^+ , домен потенциалзависимости

№ п/п	Наименование семейства каналов (на основе схожести структуры и эволюционного происхождения)	Кол-во генов	Особенности структуры
Механочувствительные катионные каналы (13 генов)			
1	Механочувствительно-подобные каналы	10	Тример или тетрамер, 2 трансмембранных домена
2	Механочувствительные МСА-каналы	2	Тример или тетрамер, 1 трансмембранный домен
3	Механочувствительные пьезоканалы	1	Олигомер, 30 трансмембранных доменов
Аннексыны (8 генов)			
1	Аннексыны	8	Встраиваемые в мембрану цитоплазматические белки, формирующие неселективный катионный канал

Различают следующие типы активного транспорта минеральных веществ:

1) **первичный активный транспорт** — трансмембранный векторный перенос иона происходит непосредственно в ходе энергетического преобразования в АТФазных системах:

- **электрогенный активный транспорт** — первичный активный трансмембранный перенос ионов во время АТФазной реакции, сопровождающийся генерацией электрического потенциала;

- **электронейтральный активный транспорт** — первичный активный трансмембранный перенос ионов во время АТФазной реакции, не сопровождающийся генерацией электрического потенциала;

2) **вторичный активный транспорт** происходит, когда в качестве энергетического источника используются градиенты других ионов, например электрохимический градиент H^+ для транспорта K^+ через K^+-H^+ -симпортер. Основными структурами, осуществляющими активный транспорт ионов, являются АТФазные помпы и ряд ионспецифичных транспортеров, работающих по разным механизмам. В частности, H^+ -АТФаза осуществляет активную секрецию протонов из клеток корневой системы — фундаментальный процесс, важный для всех трансмембранных потоков в растениях и известный как **ацидофицирующая активность** корневой системы. Возникающая при этом разность электрических потенциалов по обе стороны мембраны (отрицательный мембранный потенциал) приводит к поглощению клеткой катионов против их электрохи-

мического потенциала на мембране. Кроме того, H^+ -АТФаза (протонная помпа) создает на плазматической мембране градиент H^+ : 10^{-5} – 10^{-6} М в клеточной стенке против 10^{-7} М в цитоплазме, необходимый для энергизации симпортеров.

АТФазы — обширная группа ферментов, имеющих схожую структурную организацию (различают пять классов: F-, V-, A-, E- и P-АТФазы). Для транспорта протонов и элементов минерального питания особую роль играют P-АТФазы (табл. 7). Сегодня известно 159 генов P-АТФаз. Все данные ферменты имеют сайт связывания и гидролиза АТФ (фосфорилирования) и сайт связывания транспортируемого иона. После гидролиза АТФ внутримолекулярная перестройка АТФазы приводит к транспорту иона против градиента его электрохимического потенциала с одной стороны мембраны на другую. АТФазы участвуют в транспорте катионов одно- и двухвалентных металлов. Их экспрессия усиливается при дефиците металлов из группы макро- и микроэлементов.

Таблица 7

Типы P-АТФаз эукариотических организмов

Тип P-АТФаз	Подтипы и их функции
Тип I	Тип IA: включает 2 комплекса — один для H^+ , другой для K^+ Тип IB: транспортирует Cu^+ , Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} и Co^{2+}
Тип II	Типы IIА и IIВ: транспортируют Ca^{2+} Тип IIС: Na^+/K^+ и H^+/K^+ только у животных Тип IID: у грибов — функция не известна
Тип III	H^+ -АТФазы плазматической мембраны растений (10 генов) и грибов (IIIA), а также Mg^{2+} -АТФазы бактерий (IIIB)
Тип IV	Фосфолипидные АТФазы
Тип V	Есть у всех эукариот. Функция не известна. Предположительно транспорт катионов

Ионспецифичные активные транспортеры участвуют в транспорте практически всех макро- и микроэлементов минерального питания и представляют собой сложные макромолекулярные интегральные мембранные комплексы (6–18 трансмембранных доменов), имеющие сайт связывания элемента и сайт связывания для иона, который транспортируется в обратном (антипорт) или том же (симпорт) направлении. Движущей силой ионспецифичных транспортеров является разность электрохимических потенциалов ионов H^+ , Na^+ или K^+ . Всего выделено около 10 классов данных транспортеров. У растений насчитывается до 100 генов, кодирующих несколько семейств симпортеров и антипорте-

ров. Например, в симпорте с ионом H^+ в растительную клетку переносятся анионы (нитрат, фосфат, сульфат). В антипорте с H^+ из клеток выкачивается Na^+ . Такие транспортные процессы суммарно не изменяют разности электрических потенциалов на мембране (электронейтральные процессы). В то же время значительно большее количество транспортеров работает как котранспортеры ионов одного знака (H^+ и K^+ , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} и др.). Разность электрохимических потенциалов протонов при этом служит движущей силой котранспорта других ионов. Это пример электрогенного переноса, так как изменяется мембранный электрический потенциал.

Для более глубокого понимания процессов, происходящих на мембранах растительных клеток, необходимо иметь представление о биофизических механизмах, лежащих в их основе. Кроме транспортных АТФаз, для которых движущей силой является энергия гидролиза АТФ, движущими силами других транспортных систем (ионных каналов и ионспецифичных транспортеров) выступает энергия разности электрохимических потенциалов ионов по обе стороны мембраны. В этом случае участвуют два явления: тепловое движение молекул (диффузия), направленное из области высокой концентрации ионов в область их низкой концентрации, и электрическое поле мембраны, т. е. величина ее электрического заряда (обычно от -100 до -250 мВ для растительной клетки). Влияние электрического поля на мембрану велико. Так, при разности электрических потенциалов (РЭП) на мембране, равной -58 мВ, клетка будет способна удержать в 10 раз большую концентрацию любого одновалентного катиона. РЭП, равный -29 мВ, позволит удержать в 10 раз большую концентрацию двухвалентных катионов. Если величина РЭП станет более отрицательной, то катионы начнут входить в клетку пассивно, несмотря на то, что их концентрация там уже больше, чем снаружи. Для анионов величина мембранного потенциала, удерживающего их в клетке, должна иметь другой знак (т. е. быть положительной), что не встречается у растений. Они «выталкиваются» отрицательным РЭП из клетки. Поэтому в обычных почвенных условиях анионы практически без исключения поступают из почвенного раствора при помощи активных механизмов.

Энергетическое состояние переносимого иона (j), с учетом заряда последнего (z_j), может быть выражено электрохимическим потенциалом (μ_j):

$$\mu_i = \mu_i^* + RT \ln a_j^i + z_j F \psi^i,$$

где R — универсальная постоянная; a_j — активность иона; T — абсолютная температура; F — постоянная Фарадея; ψ^i — величина электрического потенциала отсека i . Индекс i указывает на определенный раствор, разделенный мембраной. Компонента $RT \ln a_j^i$ по сути представляет собой выражение энергии, заложенной в определенной химической активно-

сти (концентрации) иона. Чем выше концентрация вещества в данной точке, т. е. его активность, тем выше его химический потенциал — способность выполнять работу, в данном случае — передвигаться. Компонента $z_j F \psi^i$ показывает, какой энергией обладает электрический потенциал на мембране. Совместно эти две компоненты формируют электрохимический потенциал, учитывающий как концентрацию иона, так и заряд (РЭП) мембраны.

При равновесии величины электрохимических потенциалов ионов по обе стороны мембраны должны быть равны. При наличии разности электрохимических потенциалов должен отмечаться поток вещества в сторону более низкого значения электрохимического потенциала.

Несложно показать, что равновесное распределение ионов в системе, разделенной мембраной, возможно при отсутствии равенства их концентраций. Эти условия определяются уравнением

$$\Delta \Psi_j^N = \frac{R \cdot T}{z_j \cdot F} \ln \frac{a_j^1}{a_j^2}.$$

Разность электрических потенциалов $\Delta \Psi_j^N$ в уравнении называется *потенциалом Нернста для вещества j*. Как уже упоминалось, при значении трансмембранной разности потенциалов, равной потенциалу Нернста, равновесие возможно даже в отсутствие равенства концентраций иона по обе стороны мембраны.

Огромное значение в жизни растения имеет радиальный транспорт веществ в корне (от почвенного раствора до сосудов ксилемы), а затем дальний транспорт по стеблю в надземную часть растения с транспирационным потоком воды. Можно условно выделить нижний и верхний концевые двигатели потока воды и веществ в растении. Энергия для данных процессов происходит из колоссальной (100–300 раз) разницы в водном потенциале корневых тканей (высокий водный потенциал) и листа (низкий водный потенциал).

Как и для воды, для веществ,двигающихся через корень до проводящей ткани, выделяют два пути: из протопласта в протопласт или в обход по клеточным стенкам и межклетникам. Поступление воды и веществ начинается с клеток, входящих в состав ризодермиса (эпидермиса корня). Клеточная стенка — первая структурная фаза на пути движения воды и веществ в клетку.

Еще в 1930-е гг. Д. А. Сабинин указал, что рассмотрение процесса поступления веществ в растения необходимо начинать с эффектов взаимодействия оболочек растительных клеток с ионами внешней среды, и достаточно четко сформулировал представление о клеточной оболочке как

об ионообменной фазе. Ряд опытов на изолированных клеточных оболочках показал их большую адсорбционную емкость благодаря наличию фиксированных отрицательных зарядов. Адсорбционные и ионообменные свойства оболочки растительных клеток позволяют поддерживать оптимальную концентрацию ионов на границе с плазматической мембраной. Указанные свойства обеспечивают концентрацию ионов на границе «клетка — наружный раствор» даже при малых величинах их содержания в окружающей среде.

Таким образом, оболочки растительных клеток — очень эффективный путь для перемещения воды и растворенных веществ по корню в радиальном направлении. Движение воды и веществ по клеточной стенке и межклеточному пространству получило название *апопластического транспорта*.

Однако движение ионов по клеточным стенкам не всегда возможно (образование поясков Каспари в клетках эндодермы, третичные изменения клеточных стенок). В этом случае минеральные элементы должны проходить от клетки к клетке через протопласты, т. е. *симпластическим путем*. Симпласт — пространство, находящееся с внутренней стороны плазмалеммы и объединяющее протоплазму всех клеток растения благодаря наличию плазмодесм. Ряд данных указывает на то, что симпласт — важный путь движения ионов. Например, увеличение числа плазмодесм в местах усиленного транспорта веществ. Наоборот, там, где функция клеток требует изоляции от соседних клеток, плазмодесм мало или они отсутствуют.

Таким образом, существуют два пути, по которым могут перемещаться ионы; эти пути не исключают один другого. Ион может пройти определенное расстояние по апопласту, а затем проникнуть в протопласт и двигаться по симпласту, а может сразу попасть в протопласт и двигаться по симпласту. Симпластический транспорт имеет две особенности. Во-первых, при движении веществ на средние расстояния он более эффективен, чем диффузия по апопласту. Во-вторых, он обеспечивает непосредственную метаболическую регуляцию транспортируемого вещества.

Лабораторная работа № 5

Поступление аммонийного азота в растительную клетку путем диффузии аммиака через плазматическую мембрану

Вводные пояснения. Диффузия представляет собой спонтанный процесс, приводящий к перемещению вещества из одной области пространства в соседнюю, где концентрация этого вещества меньше. Диффузия возникает вследствие хаотичного теплового движения молекул растворен-

ного вещества и растворителя, для ее протекания не требуется поступление энергии. Чтобы описать диффузию, применяют законы Фика. Однако при описании процесса диффузии вещества через липидный бислой мембраны уравнение несколько видоизменяется. Поскольку мембрана является реальным барьером, то изменение концентрации вещества происходит скачкообразно на участке, сравнимом с толщиной мембраны. Таким образом, следует рассмотреть процесс диффузии вещества в материале мембраны при разности концентраций этого вещества, существующей внутри мембраны вблизи каждой из ее поверхностей. Концентрацию вещества в столь малых объемах установить практически невозможно. Поскольку материал мембраны по физико-химическим показателям существенно отличается от воды, то и концентрации диффундирующего вещества внутри мембраны могут существенно отличаться от таковых в растворе. Однако эти концентрации, вероятно, должны быть пропорциональны содержанию вещества в контактирующей с поверхностью мембраны среде: коэффициент пропорциональности равен коэффициенту распределения вещества между липидом и водой k . Поскольку толщина диффузионного слоя (она несколько больше толщины мембраны) постоянна, то математическое описание первого закона Фика для процесса диффузии через мембрану имеет вид

$$\Phi_j = P_j(C_2^j - C_1^j),$$

где P_j — коэффициент проницаемости мембраны для данного вещества; C_2^j и C_1^j — концентрации вещества в растворах по обе стороны мембраны.

Являясь слабым основанием, аммоний существует в водных растворах в виде NH_3 и $[\text{NH}_4^+]$, соотношение концентраций которых зависит от pH среды и для разбавленных водных растворов определяется константой диссоциации K_a , которая при 25 °C равна $9,61 \cdot 10^{-5}$:

$$\text{pH}^i - \text{p}K_a = \lg[\text{NH}_3]^i / [\text{NH}_4^+]^i.$$

Поступление в живую клетку аммиака было показано еще в конце XIX — начале XX в. в экспериментах, основанных на изменении цвета введенных индикаторов или внутриклеточных pH-чувствительных пигментов. Если предположить, что через мембрану могут проникать лишь незаряженные молекулы аммиака, то нетрудно показать, что при достижении равновесия концентрации ионов аммония по разные стороны мембраны будут зависеть от pH контактирующих с мембраной растворов. При достижении равновесия концентрации NH_3 по обеим сторонам мембраны ($[\text{NH}_3]^I$ и $[\text{NH}_3]^{II}$) должны уравниваться. В то же время соотношение кон-

центраций аммиака и ионов аммония в растворах определяется величинами pH и pK_a ($pK_a = -\lg K_a$):

$$pH^i - pK_a = \lg([NH_3]^i / [NH_4^+]^i),$$

где индекс i указывает на принадлежность к одному из растворов, разделенных мембраной. Кроме того, сдвиг pH среды равносителен изменению концентрации вещества, поскольку в этом случае отмечается изменение содержания транспортируемых форм (электрически нейтральных молекул NH_3) в растворе

$$[NH_3] = ([NH_3]_{\text{общ}} / (1 + 10^{(pH - pK_a)}),$$

где $[NH_3]_{\text{общ}}$ – концентрация соединений аммония в растворе.

Поток молекул аммиака Φ_{NH_3} через мембрану определяется разностью его концентраций по обе стороны мембраны:

$$\Phi_{NH_3} = P_{NH_3} ([NH_3]^{II} - [NH_3]^I).$$

Очевидно, что при достижении равновесия, когда выполняется условие $[NH_3]^I = [NH_3]^{II}$, повышенное содержание ионов аммония отмечается в более кислой среде:

$$\lg([NH_4^+]^{II} / [NH_4^+]^I) = pH^I - pH^{II}.$$

Поступающие в растительную клетку молекулы аммиака преодолевают две мембраны: плазматическую и тонопласт. Содержимое вакуоли имеет кислую реакцию. Проникая в вакуоль, аммиак переходит преимущественно в диссоциированную форму, которая не может путем диффузии покинуть вакуоль и оказывается «замкнутой» в ее пространстве, т. е. имеет тенденцию к аккумуляции. В этом случае равновесная концентрация ионов аммония, созданная в вакуоли растительной клетки, будет определяться соотношением величин pH клеточного сока и окружающей среды. Однако при аккумуляции аммиака в вакуоли растительной клетки должно происходить подщелачивание вакуолярного содержимого. Поэтому оценку скорости поступления аммиака внутрь клетки удобно производить по скорости изменения кислотности внутриклеточного содержимого. При этом сдвиг pH клеточного сока можно оценить по цвету проникающего в клетку кислотно-основного индикатора.

Цель работы: изучить влияние кислотности наружного раствора на транспорт аммония в растительную клетку путем диффузии через липидный бислой.

Материалы и оборудование: культура водоросли *Nitella flexilis*; ножницы; водно-спиртовой раствор нейтрального красного; децинормальные растворы гидроксида натрия, соляной кислоты и хлорида аммония; бумага индикаторная универсальная; чашки Петри; микроскоп; секундомер.

Ход работы. Осторожно отделить ножницами от таллома 5–8 клеток междуузлий водоросли *Nitella flexilis*. Рассматривая междуузлия под микроскопом, убедиться в нативности клеток: у живых неповрежденных клеток сохраняются непрерывные ряды хлоропластов, кроме того наблюдается интенсивное движение цитоплазмы — циклоз. Налить в чашку Петри 25 мл отстоянной водопроводной воды, добавить в нее 3–5 капель раствора нейтрального красного. Поместить в чашку клетки водоросли на 15–20 мин для окрашивания. За указанное время нейтральный красный проникнет в вакуоль, и, поскольку последняя занимает более 90 % объема клетки и ее содержимое имеет кислую реакцию, междуузлия окрасятся в красный цвет.

Приготовить 100 мл раствора, содержащего 10^{-3} моль/л хлорида аммония. Этот раствор распределить поровну в четыре чашки Петри. Контролируя кислотность содержимого чашек Петри универсальной индикаторной бумагой, при помощи растворов HCl и NaOH довести показатель кислотности в первой чашке Петри до pH 10,0; во второй — до pH 9,0; в третьей — до pH 8,0; в четвертой — до pH 6,0.

Поместить в каждую чашку Петри по 1–2 окрашенных нейтральным красным клетки водоросли и включить секундомер. Ионы метиламмония слабо диффундируют через биологические мембраны, электрически нейтральные молекулы метиламина легко проникают внутрь клетки. Диметиламин, диффундируя через плазмалемму и тонопласт, поступает в вакуоль клетки и подщелачивает клеточный сок. При достижении показателя кислотности клеточного сока выше pH 7,0 происходит постепенное изменение окраски индикатора от темно-красной до бледно-желтой. Поскольку последняя на фоне ярко зеленой окраски водоросли не видна, указанный переход характеризуется восстановлением исходного цвета клетки.

Определить время, необходимое для исчезновения красной окраски клеток междуузлий в каждом варианте опыта. Исходя из значения pK_a аммиака, рассчитать концентрацию недиссоциированных форм аммиака в растворе в каждом из вариантов эксперимента. Сравнить экспозиции, необходимые для восстановления зеленой окраски водорослей, и концентрации неионизированных форм амина. Сделать заключение относительно диффундирующих через мембрану форм слабого основания.

Контрольные вопросы

1. Какие факторы влияют на степень диссоциации слабых кислот и оснований?
2. Почему биологические мембраны лучше проницаемы по отношению к недиссоциированным формам слабых электролитов?
3. При каких условиях отмечается аккумуляция аммонийного азота в клетке?

Лабораторная работа № 6

Функционирование системы транспорта нитратного азота на плазматической мембране клеток корня

Вводные пояснения. Классические исследования Д. Н. Прянишникова и его школы показали, что неорганические формы азота (аммонийный и нитратный азот) значительно лучше усваиваются растениями, чем его органические соединения. В природных условиях большое значение для питания растений азотом имеют почвенные микроорганизмы, которые минерализуют содержащийся в почве органический азот, превращая его в конечном счете в аммиак, являющийся тем исходным соединением, которое используют растения для синтеза аминокислот и белков.

Ввиду наличия избыточного отрицательного заряда внутри клетки перенос ионов NO_3^- через плазматическую мембрану и его аккумуляция возможны лишь благодаря работе систем активного транспорта, функционирующих за счет энергии, созданной неравновесным распределением по обе стороны мембраны ионов H^+ , т. е. ионы NO_3^- поступают в клетку в симпорте с протонами.

Поступление нитрат-иона в растительную клетку находится под жестким метаболическим контролем, и в отсутствие возможности их восстановления (т. е. при инактивированной нитратредуктазе) функционирование системы транспорта ионов NO_3^- плазматической мембраны прекращается.

При исследовании процессов поступления элементов минерального питания в растения определяется либо накопление их в клетках, либо убыль в среде. Первый вариант предполагает, например, использование радиоактивных изотопов и определение динамики накопления радиоактивности в растениях. Для реализации второго варианта могут быть применены ионоселективные электроды и химический анализ среды.

Ионоселективные электроды — датчики, генерирующие потенциал (потенциометрические датчики), величина которого пропорциональна логарифму концентрации определяемого иона:

$$\Delta\Psi \sim (RT/zF)\ln a',$$

где R — газовая постоянная; T — абсолютная температура; z — заряд иона; F — число Фарадея; a' — концентрация иона в растворе.

Конструкции ионоселективных электродов могут быть различных типов в зависимости от мембраны. Основой ионоселективных электродов с жидкой мембраной являются ионообменник или нейтральный пере-

носчик ионов, растворяющиеся в несмешивающихся с водой растворителях. Тонкие пористые мембраны из неорганических или органических материалов пропитываются этими растворами, и переносчики ионов внедряются в полимерную матрицу (например, ПВХ), в которую дополнительно введены пластификаторы: дибутилфталат, диоктилфталат или диоктиладипинат.

Промышленность выпускает довольно разнообразные ионоселективные электроды, позволяющие регистрировать изменение концентрации основных макроэлементов в среде.

Цель работы: изучить влияние условий выращивания проростков злаковых культур на скорость поглощения нитрат-ионов с помощью ионоселективной электрометрии.

Материалы и оборудование: 10–14-дневные проростки сельскохозяйственных растений, выращенные при различных условиях; ножницы; лабораторные стаканы вместимостью 200–300 мл (3 шт.) и 50 мл (1 шт.); ионоселективный электрод для определения NO_3^- ; иономер универсальный; децинормальный раствор нитрата калия или натрия; мерные пипетки; мерные колбы; стеклянные сосуды вместимостью 100 мл (5 шт.); секундомер; воздушный микрокомпрессор; осветитель.

Ход работы. Для определения концентрации нитрата в среде произвести калибровку иономера с подключенным к нему ионоселективным датчиком. Для этого, пользуясь мерной посудой и 0,1 М раствором нитрата калия (натрия), приготовить стандартные растворы (объем каждого – 50 мл), содержащие 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , $3 \cdot 10^{-5}$ и 10^{-5} М KNO_3 (NaNO_3). Применяя указанные стандартные растворы, произвести калибровку прибора согласно прилагаемой инструкции.

Осторожно отделить по 10 проростков каждого варианта выращивания (всего 3 варианта: выращенные на нитратном азоте, выращенные на аммонийном азоте и в условиях азотного голодания), поместить в отдельные стаканы и сделать маркировку сосудов с растениями. Добавить в каждый стакан по 100 мл 10^{-4} М раствора нитрата калия (натрия) (экспериментальная питательная среда – ЭПС) и поместить туда пластиковые трубочки от воздухопроводов микрокомпрессора. Проходящий через раствор воздух будет аэрировать корни растений и осуществлять перемешивание среды. Включить осветитель и секундомер. Определить исходное содержание нитрат-ионов во всех вариантах опыта. По прошествии 30-минутной инкубации растений на свету определить конечное содержание нитрат-ионов в образцах с растениями. Результаты занести в таблицу (пример оформления см. ниже).

На основании полученных результатов сделать выводы о влиянии условий выращивания проростков злаковых культур на скорость поглощения нитрат-ионов.

Пример оформления таблицы

Условия культивирования растений	Исходное содержание NO_3^- в растворе, М	Содержание NO_3^- в ЭПС через 30 мин, М	Разность концентраций NO_3^- в ЭПС, М
На нитратном азоте			
На аммонийном азоте			
В условиях азотно-го голодания			

Контрольные вопросы

1. Какие минеральные соединения азота используются растениями в качестве азотного питания?
2. Какую роль в азотном метаболизме играют нитрат- и нитритредуктазы?
3. На чем основан принцип ионселективной электрометрии?

Лабораторная работа № 7

Измерение кинетики поглощения ионов калия корнями растений

Вводные пояснения. Среди макроэлементов, составляющих основу минерального питания растений, калию отводится особая роль в процессах жизнедеятельности растений. В отличие от азота или фосфора он не входит в состав синтезируемых органических соединений. Калий – наиболее обильный катион цитоплазмы. Поддержание калиевого гомеостаза обеспечивается работой систем активного и пассивного транспорта плазматической мембраны клетки.

Распределение ионов K^+ между клеткой и ее окружением характеризуется высокой степенью анизотропии: создается тысячекратная разница в концентрациях этого элемента по обе стороны плазматической мембраны. Постоянство цитоплазматической концентрации K^+ обеспечивается балансом входящих в клетку и выходящих из нее ионных потоков. Еще в 60-е гг. XX в. было продемонстрировано существование на плазмалемме клеток корней высших растений по крайней мере двух транспортных систем, ответственных за поглощение ионов K^+ .

Функционирование этих транспортных систем связано с различным содержанием поглощаемых ионов в среде. Работая в тандеме, оба типа транспортных систем обеспечивают перенос ионов калия в клетки растения. Система типа I, которую в настоящее время принято называть высокоаффинной, доминирует при низких уровнях K^+ в среде (ниже 10^{-4} – 10^{-5} М). Данная система активная, т. е. использует энергию АТФ. В геноме она представлена несколькими крупными семействами высокоаффинных транспортеров. Система типа II – низкоаффинный механизм, представленный калиевыми каналами нескольких типов. Данная система пассивная, т. е. не использует метаболическую энергию. В геноме растений ионные каналы формируют одну из самых обширных и разнообразных групп генов.

Говоря о поглощении ионов калия растениями, следует иметь ввиду нетто-поток – разность между входом иона K^+ в корни растения и выделением его в среду. Наиболее просто и наглядно нетто-потоки ионов могут быть определены с помощью ионоселективных электродов. В этом случае о поглощении иона K^+ можно судить по убыли его содержания в наружном растворе.

Цель работы: определить скорость поглощения ионов калия корневой системой растений и установить влияние на данный процесс разобчителя фосфорилирования динитрофенола (ДНФ).

Материалы и оборудование: 10–14-дневные проростки сельскохозяйственных растений; ножницы; лабораторный стакан вместимостью 100–200 мл; ионоселективный электрод для определения K^+ ; иономер универсальный; 0,1 М хлорида калия; 10^{-2} М ДНФ; мерные пипетки; мерные колбы; стеклянные сосуды вместимостью 100 мл (5 шт.); секундомер; воздушный микрокомпрессор; осветитель.

Ход работы. Осторожно отделить 15–20 проростков и положить в стакан, содержащий 100 мл дистиллированной воды. Стакан с растениями поместить в установку для измерения концентрации ионов калия (рис. 5). Во время эксперимента для перемешивания через экспериментальную среду непрерывно прокачивается воздух от микрокомпрессора. Регистрация показаний ионометрического датчика осуществляется с помощью иономера и автоматического самопишущего потенциометра КСП-4. При отсутствии самопишущего прибора следует записывать показания иономера через каждые 1–2 мин.

Изучение процессов поглощения ионов K^+ производится на основе исследования динамики содержания ионов калия в среде и последующего вычисления величины нетто-потока, который определяется как результат

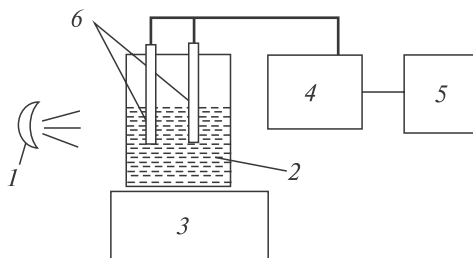


Рис. 5. Схема установки для определения потоков ионов калия внутрь корней проростков:

1 — осветитель; 2 — стакан с проростками; 3 — подставка под стакан;
4 — иономер; 5 — самопишущий прибор КСП-4; 6 — электроды

изменения концентрации ионов K^+ в среде за конкретный период времени (обычно 20–30 мин) с учетом объема среды инкубации:

$$\Phi = (C_K^1 - C_K^2) \cdot V / (\Delta t \cdot n),$$

где Φ — поток ионов калия внутрь одного растения (моль/мин); C_K^1 и C_K^2 — концентрации ионов калия в среде инкубации в начальный период и спустя Δt мин; V — объем среды инкубации (л); Δt — промежуток времени измерения концентрации; n — количество растений.

Ввести в экспериментальную среду раствор хлорида калия, чтобы его концентрация составляла 0,1 мМ. Обычно сразу же после добавления калия в среду с проростками происходит монотонное снижение содержания ионов K^+ , и через 1 ч его концентрация уменьшается десятикратно. Провести инкубацию проростков в установке в течение 20–30 мин и определить динамику убыли содержания ионов калия в среде. Для этого необходимо построить график, отложив по оси абсцисс время в минутах, а по оси ординат концентрацию в мМ. Исходя из полученного графика, пользуясь вышеприведенной формулой, вычислить поток ионов K^+ внутрь растения.

Для определения связи между скоростью поступления ионов калия в корневую систему растений и процессами энергетического метаболизма рекомендуется использовать разобщители фосфорилирования (например, ДНФ). Это соединение приводит к нарушению процесса синтеза АТФ в результате снижения разности электрохимических потенциалов ионов водорода на энергосопрягающих мембранах (тилакоидных и митохондриальных).

После инкубации проростков в среде с 0,1 мМ хлорида калия добавить в экспериментальный раствор 10^{-4} М ДНФ. В течение 20–30 мин

продолжить следить за динамикой изменения содержания ионов калия в среде. Рассчитать скорость нетто-потока ионов калия в корневую систему при добавлении ДНФ. Результаты оформить в виде таблицы (пример оформления см. ниже).

Пример оформления таблицы

Вариант условий эксперимента	Начальное содержание ионов K^+ в среде, мМ	Содержание ионов K^+ в среде через 20 мин, мМ	Нетто-поток ионов K^+ в растении, моль/мин
Среда без ДНФ			
Среда с ДНФ			

Сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Опишите роль ионов калия в процессах жизнедеятельности растений.
2. Каким образом калий поступает в растительную клетку?
3. Что представляют собой высоко- и низкоаффинный механизмы транспорта ионов калия через плазматическую мембрану?
4. Каким образом разобщители фосфорилирования влияют на транспорт ионов в клетки?

1.3. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ РАСТЕНИЙ НА ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Большое значение в выяснении роли элементов минерального питания в процессах роста и развития растений имел вегетационный метод, представляющий собой выращивание растений в особых вегетационных сосудах в строго контролируемых искусственных условиях. В зависимости от целей опыта растения выращивают в водной, песчаной или почвенной культурах, в которые вносят определенные удобрения или питательные смеси. В настоящее время известны сбалансированные питательные растворы, применяемые для культивирования растений в искусственных условиях, например раствор Кнопа, Прянишникова, Хогланда, Мурасиге – Скуга.

К питательным смесям предъявляется ряд требований. Питательный раствор должен быть универсален, т. е. пригоден для выращивания растений разных видов. Он должен содержать все необходимые элементы в доступной форме, нужных количествах и соотношениях. Необходимо,

чтобы одно- и двухвалентные ионы были уравновешены. Раствор должен быть оптимальным по концентрации водородных ионов. Для большинства растений оптимальный pH почвенного раствора находится между 5,5–6,5. В водных культурах при ограниченных объемах питательного раствора часто происходит изменение pH за счет избирательного поглощения катионов и анионов корневой системой. В связи с этим состав питательных растворов должен быть сбалансирован по содержанию физиологически кислых и физиологически щелочных солей.

Еще в 1860–1965 гг., выращивая растения на полном питательном растворе и с исключением отдельных элементов, И. Кноп доказал, что растения на свету могут синтезировать все необходимые органические вещества из минеральных, т. е. являются абсолютными автотрофами. Почему же внесение в почву органики приводит к увеличению урожая растений? Во-первых, органические вещества улучшают структуру почвы, что влияет на ее водный и воздушный режим. Во-вторых, органическими соединениями питаются почвенные бактерии и грибы, способствующие их минерализации — разложению органики с образованием минеральных, неорганических соединений, т. е. в результате минерализации почва обогащается минеральными элементами, необходимыми для роста и развития растений.

Роль микроорганизмов в питании растений была выявлена в опытах, проведенных в стерильных условиях. Метод стерильных культур, с помощью которого было установлено, что корневые системы растений поглощают растворимые минеральные соли и некоторые органические соединения, например аминокислоты, был разработан Д. Н. Прянишниковым (1931). Более сложные органические вещества в отсутствие микроорганизмов не поглощаются растениями.

В настоящее время существует множество модификаций вегетационного метода культивирования растений на искусственных питательных смесях. Например, *гидропоника* — выращивание растений в сосудах или траншеях без почвы, куда подается искусственный питательный раствор. Кроме того, применяются способы промышленного культивирования растений с использованием твердых субстратов различного происхождения: *агрегатопоника* — вермикулит, полиэтилен, минеральная вата, гравий и т. д.; *хемопоника* — кокосовая стружка, торф, рисовая шелуха и др.; *ионитопоника* — ионообменные смолы. Метод выращивания растений без почвы, при котором корни находятся во влажном воздухе и периодически опрыскиваются мелкими каплями питательного раствора, получил название *аэропоника*. Использование этих методов позволяет создать оптимальные условия не только для питания растений, но и для дыхания корней, что благоприятно сказывается на их продуктивности.

В середине XX в. были разработаны методы выращивания не только целых растений, но и изолированных клеток, тканей и органов на питательных средах в стерильных условиях — *культура изолированных клеток и тканей растений*. Данные методы позволили не только исследовать влияние внешних факторов на рост и развитие растений, но и значительно повысить их продуктивность, выращивать растения круглогодично, получать экологически чистую продукцию и уменьшать затраты на производство.

Лабораторная работа № 8

Влияние макроэлементов на рост и развитие растений

Вводные пояснения. Потребность растений в минеральных элементах можно установить при их выращивании в строго контролируемых условиях на сбалансированных питательных смесях методом водных или песчаных культур. В качестве субстрата применяют дистиллированную воду или химически чистый песок. Как питательную смесь для водных культур чаще всего используют смесь Кнопа. Ее состав следующий (г/л):

- 1) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — 1,0 г или $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ — 1,44 г;
- 2) KH_2PO_4 — 0,25 г;
- 3) KCl — 0,125 г;
- 4) MgSO_4 — 0,25 г или $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,51 г;
- 5) FeCl_3 — 0,0125 г.

Для приготовления питательной смеси Кнопа требуется сделать навески солей и растворить их в 1 л дистиллированной воды. Однако при многократных приготовлениях такого раствора удобнее сделать растворы солей, исходная концентрация которых во много раз больше требуемой. Чаще всего берут концентрацию в 100 раз большую, так называемый «маточный раствор». Затем соответствующий объем концентрированного раствора, а именно 10 мл, доводят до 1 л дистиллированной водой.

Чтобы выяснить влияние минеральных элементов на рост и развитие растений, применяют смесь Кнопа с исключением отдельных макроэлементов. Пример расчета при исключении калия из среды: KH_2PO_4 заменяют солью $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, сохраняя постоянное количество фосфора. Для этого рассчитывают содержание фосфора в 0,25 г KH_2PO_4 (x), а затем количество $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, где будет столько же фосфора, сколько в 0,25 г KH_2PO_4 (y):

$$\begin{aligned} & 1) \text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{P} \\ & 136,2 \text{ г} - 31,04 \text{ г} \quad \Rightarrow \quad x = \frac{31,04 \cdot 0,25}{136,2} = 0,057 \text{ г;} \\ & 0,25 \text{ г} - x \end{aligned}$$

$$\begin{array}{l}
 2) \text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} - \text{P} \\
 138,0 \text{ г} - 31,04 \text{ г} \\
 y - 0,057 \text{ г}
 \end{array}
 \Rightarrow
 y = \frac{138,0 \cdot 0,057}{31,04} = 0,25 \text{ г.}$$

Следовательно, 0,25 г KH_2PO_4 в питательной смеси Кнопа заменяют 0,25 г $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Аналогичные расчеты проводят для приготовления питательных смесей с исключением азота и фосфора.

Цель работы: изучить влияние калия, азота и фосфора на морфометрические характеристики проростков злаковых культур, выращенных в водной культуре.

Материалы и оборудование: 10–14-дневные проростки злаковых растений; стеклянные банки на 0,5 л с крышками; стеклянные трубочки; «маточные растворы» питательной среды Кнопа; соли $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NaCl , KCl , $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Ход работы. Используя «маточные растворы», приготовить полную смесь Кнопа. Для выяснения роли минеральных элементов в процессах роста и развития растений необходимо приготовить смесь Кнопа с исключением отдельных элементов. Опыт проводится по следующей схеме:

- вариант 1 — контроль (дистиллированная вода);
- вариант 2 — NPK (полная питательная смесь);
- вариант 3 — NP (смесь без калия);
- вариант 4 — NK (смесь без фосфора);
- вариант 5 — PK (смесь без азота).

Для приготовления растворов с исключением калия, азота и фосфора провести расчеты по замене солей, содержащих данные элементы. При исключении калия вместо KH_2PO_4 берут эквивалентное количество $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, вместо KCl — NaCl ; при исключении фосфора вместо KH_2PO_4 — KCl ; при исключении азота вместо $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Приготовленные растворы, а также дистиллированную воду налить в стеклянные банки объемом 250–500 мл. На каждую банку следует надеть чехол из светонепроницаемой бумаги, а затем обернуть белой и закрыть капроновой крышкой с отверстиями. Через отверстия крышки пропустить корни растений так, чтобы корневая система достигла питательного раствора, а листья располагались над поверхностью крышки. Проростки должны быть одинакового размера. В одно из отверстий крышки вставить стеклянную трубку для аэрации раствора. Банки промаркировать, обозначив на них номер группы студентов, фамилии, вариант опыта, и оставить на 2–3 недели. В течение всего эксперимента контролировать

уровень питательной смеси в банке и pH раствора. В случае значительного изменения реакции в питательную смесь добавить пипеткой 0,1 н HCl или 0,1 н NaOH до оптимального pH. При необходимости доливать питательный раствор. Для снабжения корневой системы кислородом рекомендуется ежедневное продувание питательного раствора воздухом в течение двух минут.

В конце эксперимента определить морфометрические показатели, характеризующие контрольные и опытные растения, отметить интенсивность окраски листьев, наличие признаков хлороза и некроза. Результаты опыта записать в таблицу (пример оформления см. ниже).

Сделать вывод о значении изученных элементов для роста и развития растений.

Пример оформления таблицы

Вариант опыта	Длина, см		Листья		Объем корней, см ³	Масса проростка, г		Внешний вид
	Наземная часть	Корень	Число	Площадь, см ²		Сырая	Абсолютно сухая	

Контрольные вопросы

1. Что представляют собой водные и песчаные культуры?
2. Какие требования предъявляются к питательным смесям?
3. Приведите примеры физиологически нейтральных, физиологически кислых и физиологически щелочных солей?
4. Какие сбалансированные питательные растворы вам известны?

1.4. ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ К ГЛАВЕ «МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ»

Вопросы

1. Каковы принципы классификации элементов минерального питания растений и их подразделения на макро- и микроэлементы?
2. Перечислите макро- и микроэлементы, необходимые для жизнедеятельности растений.
3. Назовите органогенные и зольные элементы растений.
4. В какой форме макро- и микроэлементы поступают в растения?

5. Какая связь существует между концентрацией элементов минерального питания в окружающей среде и организме растения? Каким показателем она выражается?

6. Перечислите основные источники азота для растений.

7. Какова физиологическая роль азота в растениях?

8. Какие микроорганизмы способствуют питанию растений азотом?

9. Назовите ключевые ферменты и механизмы реакций первичного аминирования и переаминирования.

10. Опишите этапы круговорота азота в природе.

11. Опишите этапы метаболизма азота в растении.

12. Какова физиологическая роль фосфора в жизнедеятельности растений?

13. Какие основные классы фосфоросодержащих органических соединений вам известны?

14. Опишите этапы круговорота фосфора в природе.

15. Роль серы в жизнедеятельности растений.

16. Перечислите основные серосодержащие соединения растений.

17. Физиологическая роль калия в растениях.

18. В какой форме калий присутствует в растительной клетке?

19. Физиологическая роль кальция в растениях.

20. Участие кальция в трансдукции сигналов в клетке.

21. Охарактеризуйте механизмы поддержания цитоплазматического гомеостаза кальция в растительной клетке.

22. Физиологическая роль магния в растениях.

23. Какие основные потенциалобразующие ионы вы знаете?

24. Какова физиологическая роль микроэлементов в жизнедеятельности растений?

25. Участие микроэлементов в окислительно-восстановительных реакциях растительной клетки?

26. Механизмы защиты растений от повышенных концентраций микроэлементов в окружающей среде.

27. Строение корня как органа поглощения воды и минеральных элементов из почвы.

28. Перечислите функции отдельных тканей, составляющих структуру корней.

29. Что представляет собой кажущееся свободное клеточное пространство? Его роль в транспорте ионов в клетку.

30. Назовите пути радиального транспорта ионов.

31. Охарактеризуйте понятия «апопласт» и «симпласт».

32. Что такое коэффициент проницаемости мембран?
33. Физиологическая сущность закона Фика.
34. Какое значение имеет уравнение Нернста в описании процессов поступления элементов минерального питания в растения?
35. Что представляет собой пассивный транспорт ионов, его механизмы?
36. Охарактеризуйте структуру, свойства и функции ионных каналов.
37. Что представляет собой процесс облегченной диффузии?
38. Какие основные типы переносчиков вам известны?
39. Что представляет собой активный транспорт ионов?
40. Структура и механизм работы АТФаз.
41. Каковы основные механизмы поддержания рН в цитоплазме?

Задачи

1. Концентрация KCl в наружном растворе равна 1 мМ, внутри клетки 100 мМ. Каков будет мембранный потенциал, если K^+ находится в равновесии по обе стороны мембраны?

2. Рассчитайте время, необходимое для диффузии вещества на расстоянии 60 мкм (размер типичной клетки листа) и 3 м соответственно, при коэффициенте диффузии $5 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$. Сделайте выводы.

3. Определите коэффициент проницаемости клеточной стенки толщиной 1,2 мкм для растворенного вещества, коэффициент диффузии которого равен $2 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$. Оцените, где и во сколько раз коэффициент проницаемости больше, если известно, что в плазмалемме он равен $4 \cdot 10^{-9} \text{ см}^2/\text{с}$.

4. Рассчитайте, на какое расстояние за 60 мин диффундируют ионы, коэффициент диффузии которых составляет $2 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$?

5. Чему равен коэффициент диффузии вещества, если известно, что за 5 ч оно диффундирует на расстояние 30 мм от точки введения? Сколько нужно времени, чтобы это вещество диффундировало на расстояние 2 м от места введения?

6. Определите, на какую высоту поднимется водный раствор по капиллярным силам в сосудах ксилемы диаметром 10 мкм, если известно, что поверхностное натяжение раствора составляет 70 дин/см.

7. Одинаковые проростки высажены в три сосуда с песком. В первый сосуд внесена полная питательная смесь Кнопа, во второй — эта же смесь, но вместо $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ взят CaSO_4 , в третьем сосуде KCl заменен на KNO_3 . Сосуды помещены в вегетационный домик и регулярно поливаются дистиллированной водой. Каковы будут результаты этого опыта, почему?

Тестовые задания

1. Основатель теории минерального питания:

- а) Ю. Либих;
- б) А. Д. Тэер;
- в) Я. ван Гельмонт;
- г) Ж. Б. Буссенго.

2. Выберите химические элементы, которые относятся к макроэлементам:

- а) Ca, N, P, K, Mn, S;
- б) N, P, K, Co, Mg, Zn;
- в) Fe, S, K, Ca, N, P, Cu;
- г) S, N, P, K, Ca, Mg.

3. Укажите химические элементы, которые относятся к микроэлементам:

- а) Mg, Cl, Ca, P, I;
- б) Co, Cu, B, Mn, Zn;
- в) Fe, S, Br, K, Au.

4. Определите, какой процент сухой массы растений составляют микроэлементы:

- а) меньше 0,000 01 %;
- б) от 0,01 % до 0,000 01 %;
- в) не меньше 0,01 %.

5. Укажите, в каком виде фосфор поглощается растениями:

- а) P;
- б) PO_4^{3-} ;
- в) HPO_4^{2-} ;
- г) H_2PO_4^- .

6. Назовите источники азота, используемые высшими растениями:

- а) свободный азот атмосферы и почвы;
- б) минеральные формы азота;
- в) органические формы азота.

7. Определите, почему при нехватке магния в растениях наблюдается резкое снижение содержания белков:

- а) он входит в состав хлорофилла;
- б) активизирует активность ферментов фосфатаз;

в) поддерживает структуру рибосом, исключая ассоциацию их субъединиц.

8. Назовите внешние признаки нехватки фосфора в питании растений:

- а) листья приобретают сине-зеленое окрашивание часто с пурпурным либо бронзовым оттенком;
- б) происходит хлороз листьев;
- в) загнивание и отмирание листьев.

9. Укажите, какие из перечисленных солей являются физиологически кислыми:

- а) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;
- б) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$;
- в) NaNO_3 .

10. Выберите из перечисленных солей физиологически основные:

- а) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;
- б) NH_4NO_3 ;
- в) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

11. Укажите, какое влияние окажет процесс обменной адсорбции на диффузию ионов со свободного пространства в воду:

- а) количество диффундирующих ионов уменьшится;
- б) не изменится;
- в) увеличится.

12. Апопластический транспорт питательных веществ у многоклеточных растений включает перенос:

- а) по клеточной стенке;
- б) цитоплазме;
- в) плазмодесмам;
- г) клеточной стенке и межклеточному пространству.

13. Дайте определение дальнего транспорта питательных веществ в растениях:

- а) поступление из почвенного раствора в корень;
- б) транспорт через плазматическую мембрану;
- в) радиальное перемещение по тканям корня;
- г) перемещение по сосудам ксилемы от корневой системы к наземной части.

14. Определите, с функционированием каких систем связана ацидо-фицирующая активность корневой системы:

- а) протонной АТФазы;
- б) калиевых каналов;
- в) хлорных каналов;
- г) неселективных ионных каналов.

15. Укажите, какие из перечисленных систем обеспечивают пассивный транспорт ионов:

- а) H^+ -АТФаза;
- б) K^+ -каналы;
- в) Cl^- -каналы;
- г) неселективные ионные каналы.

ГЛАВА 2

ФИЗИОЛОГИЯ СТРЕССА И АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ

Экологические особенности растений так же, как и устойчивость их к действию большого количества неблагоприятных факторов внешней среды, возникли и сформировались в процессе эволюции. Способность к защите от неблагоприятных факторов внешней среды, приспособление к ним является неотъемлемым свойством каждого растительного организма.

Поскольку повреждающих и уничтожающих факторов множество, способы защиты от них — самые разные (от метаболических механизмов до морфологических приспособлений). Адаптация, или приспособление, организма к конкретным условиям существования, помимо генетических (генетическая адаптация), может осуществляться также и за счет физиологических механизмов. Физиологическая адаптация растений — ответные защитные реакции растительного организма, оказавшегося в экстремальных условиях.

Термин «стресс» является относительно новым в физиологии (англ. *stress* — давление, нажим; или *strain* — растяжение, нагрузка, напряжение). Он был предложен в 1926 г. американским физиологом У. Кэнноном при описании свойств такого физиологического явления, как гомеостаз. Теория биологического стресса была разработана венгерско-канадским физиологом Г. Селье в 30-х гг. XX в. Согласно Г. Селье, **стресс** — совокупность всех неспецифических изменений, возникающих в организме под влиянием любых неблагоприятных и повреждающих факторов (стрессоров). Селье полагал, что живые системы способны адаптироваться к стрессорам путем концентрирования усилий, или напряжения.

Селье выделял два типа стресса: 1) эустресс, представляющий собой положительную реакцию, приводящую к приспособлению (адаптации) к стрессовым условиям; 2) дистресс, или отрицательная форма стресса, ведущая к необратимому повреждению и гибели организма. В приложении к физиологии животных Г. Селье предложил следующие фазы стрессового ответа: I — фаза тревоги; II — фаза адаптации; III — фаза истощения. Данные реакции принято называть *триадой Селье*.

При сопоставлении фаз триады у растений и животных сомнениям подверглась «схожесть» первой фазы. Она не могла быть названа фазой тревоги в случае растительного организма, не обладающего нервной системой. В связи с этим в 1960–70-е гг. ее предложили называть первичной стрессовой реакцией, а в 1990–2000-е гг. — рецепцией, или распознаванием, стресса (*stress perception or decoding*).

Заметно расширилось понимание стресса в современной физиологии растений. Наиболее часто под стрессом понимают реакцию организма растения или его части на воздействие, нарушающее его нормальную жизнедеятельность. Тем не менее в современной научной литературе под термином «стресс» рассматривают следующее:

- совокупность ответных реакций растения на стресс-фактор;
- стресс-фактор, вызывающий стресс;
- акт воздействия на растение стресс-фактором (стресс как глагол);
- истощенное состояние растения после влияния стресс-фактора.

В агрофизиологии под стрессом понимают состояние растений, вызванное неблагоприятными факторами и снижающее их продуктивность; в то же время это и сами факторы, приводящие к данному состоянию.

Ниже даны примеры определений понятия «стресс» в современной физиологии растений: «стресс — любое неблагоприятное воздействие или негативно влияющее вещество, повреждающие или блокирующие метаболизм, рост или развитие растения»¹; «стресс — условие, вызванное факторами, стремящимися сместить равновесие»²; «стресс — это изменения в физиологии организма, происходящие, когда виды встречают исклю-

¹ Lichtenthaler H. K. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants // Plant Physiology. 1996. Vol. 148. P. 4–14.

² Strasser R. J. A concept for stress and its application in remote sensing / ed. H. K. Lichtenthaler // Applications of Chlorophyll Fluorescence in Photosynthesis Research, Stress Physiology, Hydrobiology and Remote Sensing. Dordrecht, 1988. P. 333–337.

чительно неблагоприятные условия, которые необязательно будут угрожать жизни, но вызовут предупредительный ответ»¹.

Стрессор – экзо- или эндогенный фактор, вызывающий стрессовую реакцию. Стрессоры могут быть абиотическими и биотическими. Наиболее важными абиотическими стрессорами являются: засоление, засуха, механическое повреждение, гипотермия, гипертермия, ксенобиотики, переувлажнение, ультрафиолет, гипоксия, озон и т. д. К биотическим стрессорам относятся патогенные грибы, бактерии, вирусы, животные, другие растения, например инвазивная флора.

Адаптация – совокупность морфологических, физиологических и химических приспособительных реакций, обеспечивающих возможность выживания определенного вида растений при действии неблагоприятных условий среды. Это широкое понятие в научной литературе часто означает и «процесс», и «реакции», и «явление» (совокупность приспособлений), и «генетически-заложенные морфофизиологические характеристики». Приобретение устойчивости под воздействием одного из неблагоприятных факторов может вызывать повышение устойчивости растительного организма к другим стрессовым воздействиям. Это явление называется **кросс-устойчивостью** или **кросс-адаптацией** – важный практический феномен «закалки» растения, стимуляции их иммунитета малыми дозами стрессоров.

В ответных реакциях растений на стрессы выделяют неспецифический ответ (от секунд до 4–12 ч), приводящий к неспецифической устойчивости (включающейся в самых различных стрессовых ситуациях), и специфический ответ (от 1–2 ч до нескольких недель) – совокупность процессов, инициируемых в растении только определенным типом стрессовых воздействий. На формирование неспецифических элементов устойчивости (синтез антиоксидантов, перестройка цитоскелета, синтез белков теплового шока, полиаминов и осмотиков) обычно требуется значительно меньшее время и меньше энергии. В случае специфического ответа для раскодирования стресс-сигнала и прохождения специфических адаптивных реакций, таких как синтез белков-антифризов, новых ионных транспортеров, фитоалексинов, переключение фотосинтеза с C₃-типа на CAM-метаболизм, требуется гораздо больше времени.

Исследования молекулярных и клеточных механизмов стрессовых реакций у растений в последние два десятилетия стали доминирующей областью биологии растений. Это связано в первую очередь с прямым практическим выходом исследований для сельского хозяйства и их важностью для поддержания биоразнообразия.

¹ Larcher W. Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups. 4th ed. Berlin, 2003.

2.1. ТЕМПЕРАТУРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

В зависимости от диапазона действующих температур у растений формируются холодоустойчивость, морозоустойчивость и жароустойчивость.

Холодоустойчивость — способность растений длительное время переносить низкие положительные температуры (от +1 до +10 °С). Она свойственна растениям умеренной зоны. К холодоустойчивым растениям относятся ячмень, овес, лен, горох и т. д. Тропические и субтропические растения при температуре около 0 °С повреждаются и отмирают.

Морозоустойчивость — способность растений переносить температуру ниже 0 °С. Разные растения переносят зимние условия, находясь в различном состоянии. У однолетних растений зимуют семена, не чувствительные к морозам, у многолетних — защищенные слоем почвы и снега клубни, луковицы, корневища. У озимых растений и древесных пород ткани под действием отрицательных температур могут замерзнуть и даже промерзнуть насквозь, однако растения не погибают, что обуславливается их достаточно высокой морозоустойчивостью. Одним из критериев морозоустойчивости является наличие растворимых углеводов в клетках растений.

Жароустойчивость — способность растений переносить повышенные температуры. Обычно при температуре +40 °С и выше физиологические функции растений угнетаются. Высокие температуры влияют в первую очередь на белково-липидный комплекс мембран, что приводит к потере осмотических свойств клетки, изменению проницаемости и транспортной функции мембран. В этих условиях резко повышается проницаемость цитоплазматических мембран, затем наступает коагуляция белков и отмирание клеток.

Растения различных таксономических групп обладают разной чувствительностью к высоким температурам.

При действии высоких температур развиваются защитные механизмы двух типов: *избежание перегрева* и *приспособление к существованию в условиях высоких температур*.

Избежание перегрева достигается с помощью анатомических приспособлений (листья обладают ксероморфной структурой, ориентированы вертикально, кожистые, покрыты волосками, воском, имеют мало устьиц, которые часто погружены, многослойные эпидермис и палисадная паренхима), а также за счет интенсификации испарения воды в ходе устьичной транспирации.

Существование растения в условиях высоких температур достигается с помощью биохимической адаптации. Жаростойкие растения отличаются значительным количеством прочносвязанной воды; наличием ос-

мотически активных веществ (пролина, бетаинов, полиолов, углеводов) и гидрофильных олигопептидов; повышенным содержанием органических кислот, которые связывают образующийся при распаде белков токсичный аммиак; стабильным уровнем дыхания; обезвреживанием продуктов ПОЛ; стабильностью мембранных липидов и белков.

Если повреждающее действие высокой температуры превышает защитные возможности морфо-анатомических и физиологических приспособлений, включается *синтез белков теплового шока* (БТШ), которые являются одним из основных элементов адаптации к тепловому стрессу.

Впервые БТШ выявлены у дрозофилы, позже идентифицированы у животных (включая человека), микроорганизмов и растений. У растений БТШ обнаружены в 1980 г. и, как и у других организмов, множественны. БТШ растений представлены двумя группами высокомолекулярных (60–110 кДа) и низкомолекулярных (15–35 кДа) белков. Каждая группа делится на несколько представителей: БТШ подразделяют на пять семейств в соответствии с их молекулярными массами, краткая характеристика которых приведена ниже.

1. *БТШ-100* выполняют функцию шаперонов: осуществляют распад белковых агрегатов, образующихся вследствие денатурации белков при тепловом воздействии, и предотвращают ошибки в сворачивании полипептидной цепи при формировании третичной структуры белковых молекул.

2. *БТШ-90* обнаружены в цитозоле, ядре и эндоплазматическом ретикулуле; могут функционировать как молекулярные шапероны, однако, в отличие от типичных шаперонов, высокоспецифичны по отношению к определенным белкам и вступают с ними в длительное взаимодействие.

3. *БТШ-70* – АТФ-зависимые молекулярные шапероны; некоторые члены этого семейства экспрессируются конститутивно, другие индуцируются тепловым или холодовым шоком; обнаруживаются в цитозоле, ЭПР, митохондриях, пластидах и других органеллах; участвуют в сворачивании и разворачивании полипептидных цепей, сборке и разборке четвертичной структуры белка. Во время теплового шока находятся в ядрышке и мигрируют в цитоплазму после окончания теплового воздействия.

4. *БТШ-60*, по-видимому, являются молекулярными шаперонами; обнаруживаются в митохондриальном матриксе и стромах хлоропластов; не только индуцируются тепловым шоком, но и присутствуют в растениях также при нормальных температурах; главная функция состоит в сборке белковых молекул, состоящих из субъединиц. Один из БТШ-60, кодируемый ядерным геномом, представляет собой хлоропластный белок, который участвует в сборке рибулозобифосфаткарбоксилазы.

5. *Низкомолекулярные БТШ* с молекулярными массами от 15 до 30 кДа обнаруживаются в клетках растений в больших количествах; распределяются по различным компартментам; формируют комплексы с молекулярными массами от 200 до 800 кДа. Хотя их роль во многом остается неясной, предполагается, что они вносят существенный вклад в термотолерантность растений. Например, показано, что БТШ-18,1 из гороха (*Pisum sativum*) предотвращает агрегацию белков при высоких температурах. Низкомолекулярные БТШ не требуют АТФ.

Некоторые БТШ не имеют отношения к тепловому шоку, а инициируются другими типами стрессовых воздействий (засухой, низкими температурами, механическими повреждениями, засолением) и обработкой АБК.

Каким образом происходит индукция синтеза белков теплового шока? Быстрый нагрев клеток или проростков растений до температуры +40 °С (на 8–10 °С выше нормальной) подавляет синтез большинства белков и мРНК и активирует синтез около 30–50 БТШ. Новые транскрипты БТШ – соответствующие мРНК – обнаруживаются уже через 3–5 мин после воздействия высоких температур (образование наблюдается также в естественных условиях при постепенном повышении температуры), а БТШ – через 15 мин после начала теплового шока, их синтез достигает максимума через 2–4 ч, а затем ослабевает.

В индукции ответа растений на тепловой шок центральное место отводится фосфорилированию/дефосфорилированию транскрипционного фактора, воспринимающего температурный сигнал и приобретающего способность связываться с промоторными участками генов белков теплового шока и активировать их работу. Экспрессия гена БТШ-70 контролируется транскрипционным фактором HSF (heat shock factor), который взаимодействует с консервативной последовательностью HSE (heat shock element) промоторной области генов БТШ. HSE может связывать ДНК только находясь в форме тримера. Тепловой шок нужен для тримеризации: образование тримера HSE, его связывание с ДНК, транскрипционная активность подавляются при снятии теплового шока.

Лабораторная работа № 9

Защитное действие сахарозы на цитоплазму при замораживании

Вводные пояснения. Повреждение тканей при замораживании растений связано с образованием льда как внутри клеток, так и снаружи. Лед, который образуется в межклетниках, оттягивая воду из клеток, обезвоживает протоплазму. При определенной степени дегидратации, индивидуальной

для каждого растительного организма, протоплазма коагулирует. Кристаллы льда, образующиеся непосредственно в клетках, оказывают механическое воздействие, в результате чего нарушается внутренняя структура протоплазмы, резко повышается ее проницаемость, а при длительной экспозиции на морозе наступает отмирание. Скорость этого процесса зависит как от температуры и времени экспозиции, так и от водоудерживающей способности самой клетки.

Накапливающиеся в тканях растений сахара могут оказывать защитное действие при замерзании, повышая устойчивость коллоидов протоплазмы. В этом можно убедиться, если замораживать кусочки столовой свеклы в дистиллированной воде и растворах сахарозы. О гибели или повреждении тканей можно судить по увеличению проницаемости протоплазмы для клеточного сока.

Цель работы: установить действие сахарозы на устойчивость растений к отрицательным температурам.

Материалы и оборудование: корнеплоды красной столовой свеклы; 0,5 и 1,0 М растворы сахарозы; 1 М NaCl; лед колотый или снег; соль поваренная; термометр; скальпель; пробирки; стаканы; микроскоп; предметные и покровные стекла; фильтровальная бумага.

Ход работы. Из очищенного корнеплода красной свеклы сделать 15 одинаковых по размеру тонких брусочков длиной приблизительно 3 см, шириной 0,5 см и толщиной примерно 1 мм. Брусочки тщательно промыть водой для удаления сока, вытекающего из поврежденных клеток. Перенести по пять брусочков в каждую из трех пробирок: 1) с 5 мл дистиллированной воды; 2) 5 мл 0,5 М раствора сахарозы; 3) 5 мл 1,0 М раствора сахарозы.

Приготовить охлаждающую смесь: к трем частям снега или льда добавить одну часть поваренной соли и тщательно перемешать (температура должна быть около -20°C). Погрузить все пробирки в охлаждающую смесь на 15–20 мин. Затем пробирки перенести в стакан с водой комнатной температуры. После оттаивания несколько раз аккуратно встряхнуть пробирки для перемешивания растворов и отметить окраску жидкостей в баллах и окраску срезов. По интенсивности окрашивания растворов определить степень повреждения клеток.

Срезы рассмотреть под микроскопом при малом увеличении в капле того же раствора, в котором они находились. Срезы, замороженные в чистой воде, обесцветятся вследствие выхода из вакуоли клеточного сока, окрашенного антоцианами. Это происходит потому, что мембраны цитоплазмы под влиянием низкой температуры потеряли свойство избирательной проницаемости.

рательной проницаемости. Клетки в 1,0 М растворе сахарозы остаются живыми и окрашенными. На срезах 0,5 М раствора сахарозы будет наблюдаться частичное повреждение клеток. Подсчитать общее число клеток в поле зрения микроскопа и число обесцвеченных клеток.

Проверить жизнеспособность клеток, подвергшихся действию отрицательной температуры, можно поместив ткани в гипертонический раствор NaCl (1 М) на 15–20 мин. В жизнеспособных клетках будет наблюдаться процесс плазмолиза – сжатия протопласта, свидетельствующий о целостности цитоплазматической мембраны. В поврежденных клетках плазмолиз будет отсутствовать. Рассчитать количество плазмолизированных клеток в поле зрения микроскопа во всех вариантах опыта. Результаты занести в таблицу (пример оформления см. ниже).

Пример оформления таблицы

Варианты	Окраска наружного раствора	Окраска среза	Количество плазмолизированных клеток, %
Вода			
0,5 М раствор сахарозы			
1,0 М раствор сахарозы			

Сделать выводы о роли сахаров в сохранении жизнеспособности клеток растительных тканей при действии отрицательных температур.

Контрольные вопросы

1. В чем отличие холодоустойчивости от морозоустойчивости растений?
2. Назовите механизмы морозоустойчивости растений.
3. Почему отличается окраска наружного раствора при помещении срезов в растворы разного состава?

Лабораторная работа № 10 **Определение жароустойчивости растений**

Вводные пояснения. Как уже упоминалось, под жароустойчивостью понимают способность растений переносить повышенные температуры. Растения различных экологических групп характеризуются своим температурным оптимумом и обладают разной чувствительностью к высоким температурам. Следует отметить, что высокие температуры растения переносят гораздо хуже, чем низкие. Снижение температуры зимой

растения могут переносить несколько месяцев, тогда как перегрев вызывает гибель через несколько часов. Исключение составляют растения, у которых сформирована генетическая адаптация к высоким температурам (САМ-растения).

Чувствительность растений к повышенной температуре можно определить по изменению проницаемости клеточных мембран и появлению бурых пятен на листе, погруженном в слабый раствор соляной кислоты. При нарушении целостности мембран кислота проникает в хлоропласты, происходит замещение атома магния в молекуле хлорофилла на водород с образованием бурого пигмента феофитина. Неповрежденные клетки при этом останутся зелеными. У растений, имеющих более кислый клеточный сок (щавель, ревень), феофитинизация может произойти и без обработки соляной кислотой, так как при нарушении избирательной проницаемости тонопласта органические кислоты проникают из клеточного сока в цитоплазму.

Цель работы: установить ряд жароустойчивости различных видов комнатных растений.

Материалы и оборудование: свежие листья растений, различающихся по жаростойкости; 0,2 н раствор соляной кислоты; водяная баня; термометр; пинцет; чашки Петри (10 шт.); стакан с водой; карандаш по стеклу или маркер.

Ход работы. Взять листья не менее пяти растений различных видов и сформировать пять опытных образцов (в каждый образец должны входить листья всех исследуемых растений). Листья связать ниткой в пучок. Нагреть водяную баню до +40 °С, поместить в нее первый образец листьев на 10 мин, после чего перенести листья в чашку Петри и залить холодной водой. Со всеми оставшимися образцами поступить аналогичным образом, нагревая водяную баню до +50, +60, +70, +80 °С и выдерживая каждый образец при указанных соответствующих температурах в течение 10 мин. Перенести листья в чашки Петри с водой и отметить изменение их окраски.

Заменить воду в чашках Петри на 0,2 н соляную кислоту и через 10 мин отметить степень повреждения листьев по количеству появившихся бурых пятен. Следует учесть, что у растений с более кислым клеточным соком явление побурения (феофитинизация) происходит без обработки соляной кислотой.

Результаты записать в таблицу (пример оформления см. ниже), обозначив отсутствие побурения знаком «—», слабое побурение — «+», побурение более 50 % площади листа — «++» и сплошное побурение — «+++».

Пример оформления таблицы

Объект	Степень повреждения листьев при температуре, °С				
	40	50	60	70	80

Сделать выводы о критической температуре, выше которой изучаемый вид растений не может противостоять действию высоких температур. Построить ряд жароустойчивости исследованных растений.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятию «жароустойчивость».
2. Какие предельные температуры могут переносить C_3 -, C_4 - и САМ-растения?
3. Какие анатомические признаки характерны для жароустойчивых растений?

2.2. ЗАСОЛЕНИЕ

Избыточное содержание солей характерно для 30 % почв планеты. В связи с этим данный вид стресса все чаще считают самым важным. По степени засоления различают практически не засоленные почвы, слабо-, средnezасоленные почвы и солончаки. Почва считается засоленной, если она содержит более 0,25 % легкорастворимых минеральных солей. В наиболее распространенном случае (95 %) засоление вызывается избытком NaCl, при 40 мМ которого во внешнем растворе уже наблюдается негативный эффект на растения, а концентрации 100–200 мМ являются летальными для большинства видов растений. Существует множество механизмов засоления. Один из наиболее распространенных в засушливых и жарких регионах — чрезмерная ирригация (полив). При высыхании водного раствора, используемого при поливе, соли, присутствующие в нем, накапливаются в нижних горизонтах почвы в виде концентрированных рассолов. Отсутствие продолжительных осадков не дает возможности устранить (вымывать) этот избыток солей. Дальнейшая ирригация на уже поврежденных таким образом почвах приводит к образованию водного контакта с рассолом и «поднятию» его в верхние слои почвы, что вызывает гибель растений и разрушение плодородного слоя почвы. Засоление является одной из основных причин образования пустынь и, таким образом, воздействует не только на сельскохозяйственные угодья, но и на биоразнообразие дикой флоры и фауны.

Легкорастворимые соли повышают осмотическое давление почвенного раствора и создают физиологическую сухость. В почве, пригодной для выращивания сельскохозяйственных культур, осмотическое давление

почвенного раствора находится в пределах 0,5 атм, тогда как на солончаках осмотическое давление почвенного раствора может достигать 100 атм. По реакции на засоление почвы растения делят на галофиты и гликофиты.

В действии засоления можно выделить токсические эффекты Na^+ и Cl^- , а также их суммарный осмотический эффект, проявляющийся в резком падении водного потенциала. Среди токсических реакций выделяют первичные и вторичные. К ранним, или первичным, реакциям относят физиологические ответы клеток ризодермиса и коры корня. Такие ответы развиваются практически мгновенно при повышении в почвенном растворе концентрации NaCl . На более поздних стадиях (от нескольких часов до нескольких дней) засоление повреждает фотосинтетические процессы и метаболизм надземной части растения.

Согласно современным представлениям, основные первичные реакции клеток корня на засоление — потеря ионов K^+ , вход ионов Ca^{2+} в цитоплазму и генерация активных форм кислорода. Продолжительная деполаризация мембраны и активация H^+ -АТФазной помпы наблюдаются при токсическом действии засоления с первых 10–15 мин и до нескольких дней.

Лабораторная работа № 11

Влияние засоления на рост и поглощение воды растениями

Вводные пояснения. В основе реакции на засоление лежат осмотические явления. Вода из почвенного раствора попадает в корневые волоски в соответствии с законами осмоса. Поступление воды можно регулировать путем изменения концентрации питательного раствора, в котором находятся корни. Если концентрация окружающего раствора ниже, чем концентрация клеточного сока корневых волосков, вода будет поступать извне в корневую систему. Создавая нарастающий градиент концентрации наружного раствора, можно отметить уменьшение интенсивности попадания воды в корневые волоски. Нарушение водообмена приводит к торможению физиологических процессов и снижению морфометрических характеристик растений.

Цель работы: сравнить влияние засоления на морфометрические показатели проростков различных злаковых культур и оценить степень солеустойчивости выбранных растений.

Материалы и оборудование: 7-дневные проростки злаковых культур (ячменя, пшеницы, тритикале); стеклянные сосуды для выращивания проростков, объемом 0,5 л (6 шт.); крышки с отверстиями для стеклянных сосудов (6 шт.); 1,0 М раствор NaCl ; мерный цилиндр (10, 25, 100 мл); линейка; весы; карандаш по стеклу или маркер.

Ход работы. Приготовить серию растворов NaCl по следующей схеме, представленной в табл. 8, используя в качестве исходного 1,0 М раствор.

Таблица 8

Концентрация NaCl, mM	Количество 1 М NaCl, мл	Количество H ₂ O, мл
0	—	500,0
1	0,5	499,5
5	2,5	497,5
50	25	475,0
100	50	450,0
150	75	725,0
300	150	350,0

В сосуды для выращивания растений налить приготовленные растворы. Сосуды закрыть крышками с проделанными в них отверстиями, через которые пропустить корни проростков так, чтобы они были полностью погружены в раствор. В каждый сосуд высадить одинаковое количество проростков. Предварительно определить сырую массу проростков каждого варианта, измерить длину побегов и длину корней.

Через неделю измерения повторить, обратив особое внимание на объем оставшихся растворов. Рассчитать изменение анализируемых показателей (%) и убыли растворов по вариантам, принимая за 100 % исходные данные. Полученные данные занести в таблицу (пример оформления см. ниже).

Пример оформления таблицы

Концентрация раствора NaCl, mM	Сырая масса проростков, г			Средняя длина побегов, см			Средняя длина корней, см			Объем оставшегося раствора	
	нач.	через 7 дн.	%	нач.	через 7 дн.	%	нач.	через 7 дн.	%	мл	%
0											
1											
5											
50											
100											
150											
300											

Построить график зависимости изменения одного из показателей (например, длины проростков) от концентрации раствора. Сделать вывод о влиянии разных концентраций хлорида натрия на морфометрические показатели проростков и степени солеустойчивости исследованных культур.

Контрольные вопросы

1. На какие группы делятся растения по степени устойчивости к засолению?
2. Назовите механизмы солеустойчивости растений.
3. Как можно регулировать поступление воды в корневую систему из питательного раствора, в котором находятся корни?

2.3. ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС

Практически неизбежным следствием действия любого стрессового фактора является активация свободно-радикального и перекисного окисления липидов, белков, углеводов, ДНК и РНК за счет чрезмерного образования активных форм кислорода (АФК). Это приводит к дисфункции клеточных органелл, биохимических превращений и разрушению генетического аппарата, выступая одной из причин гибели растительного организма при разнообразных стрессовых воздействиях.

Оксидативный стресс — процесс повреждения клетки в результате действия АФК. Увеличение содержания АФК — процесс смещения баланса между образованием и устранением форм активированного кислорода. Триpletный кислород (O_2) — свободный радикал (дирадикал), однако он исключительно малоактивен химически благодаря явлению так называемой спиновой рестрикции (наличие однонаправленных спинов неспаренных электронов). Эволюционно растения и животные приспособились использовать кислород во многих процессах, основные из которых — окислительное фосфорилирование и фотосинтез. Для этого клетки активируют кислород, присоединяя к нему высокоэнергизированные электроны, снимая таким образом спиновую рестрикцию (рис. 6, реакция I). Приобретая электроны, кислород восстанавливается до воды с образованием промежуточных продуктов (интермедиатов). Супероксидный анионный радикал (супероксид), перекись водорода и монооксид азота выступают в роли восстановителей или являются очень слабыми окислителями, в то время как образующиеся из них в дальнейшем гидроксильный радикал и пероксинитрит — сильнейшие из известных в биологических системах окислители.

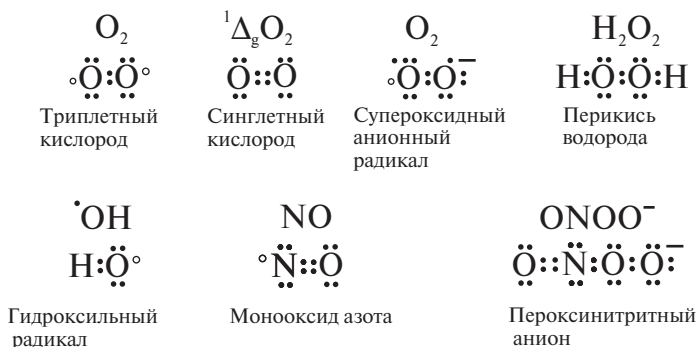
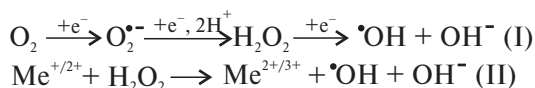


Рис. 6. Химизм образования свободных радикалов и активных форм кислорода в клетке:

I — реакция активации триплетного кислорода под действием высокоэнергизированных электронов; II — реакция восстановления перекиси водорода до гидроксильного радикала ионом переходного металла (Me) (под чертой изображены формулы наиболее важных с физиологической точки зрения АФК; сверху приведены стандартные обозначения в биологии, снизу схемы Льюиса, демонстрирующие наличие свободных радикалов (точки без закрашки))

Следует различать понятия «свободные радикалы» и «активные формы кислорода». Свободные радикалы — любые свободно диффундирующие молекулы, имеющие неспаренные электроны. К ним относится, например, синглетный кислород (O_2). Формально ионы переходных металлов можно назвать свободными радикалами, так как они содержат неспаренные электроны. АФК — любые молекулы, имеющие в составе кислород в более активной, чем в триплетном кислороде, форме. Многие из них не являются свободными радикалами (например, перекись водорода). Как свободные радикалы, так и АФК — не всегда токсичные и вредные для клетки вещества. В последние годы показано, что многие из них важны для нормальной жизнедеятельности и выполняют роль незаменимых вторичных посредников, регуляторов и сигнальных агентов. Необходим даже биосинтез гидроксильного радикала, так как это вещество ослабляет клеточную стенку и активирует катионные каналы, способствуя полярному росту клетки.

Особую роль в образовании самой реакционно-активной АФК, а именно гидроксильного радикала, играют ионы переходных металлов,

такие как ионы железа и меди. Они принимают электроны от органических восстановителей клетки главным образом при «утечке электронов» в электрон-транспортных цепях либо от аскорбиновой кислоты. Восстановившись, они оказываются способными взаимодействовать с перекисью водорода, преобразуя ее в гидроксильный радикал. Сила гидроксильного радикала как окислителя настолько значительна, что он взаимодействует с первой же молекулой на своем пути, преобразуя ее в свободный радикал. В липидной мембране это приводит к запуску так называемого гидроперекисного, или перекисного, окисления липидов. Каждый образующийся при этом липидный радикал дает два новых, приводя к лавинообразному окислению и разрушению биологических мембран, нарушению их барьерной, метаболической и сигнальной функций. Часто запуск окисления липидов под действием гидроксильного радикала приводит к гибели клеток.

Образование перекиси водорода и гидроксильного радикала вблизи белковой молекулы ведет к быстрому окислению ее сульфгидрильных групп, а при высокой концентрации АФК — к переносу и встраиванию целой карбонильной группы в полипептидную цепь. Это нарушает работу ферментов и повреждает структурные белки. В случае ДНК главной мишенью АФК становятся двойные связи в молекулах нуклеотидов. Наиболее подвержен окислению тимин. Под действием АФК сахара могут давать короткие, насыщенные кислородом молекулы и разлагаться при сильном оксидативном стрессе до муравьиной кислоты.

При многих типах стрессовых воздействий клетка сама продуцирует АФК (идет синтез *de novo*). Вероятно, это необходимо для кодирования информации о стрессе (так как АФК — сигнальные молекулы), индукции иммунитета и запрограммированной клеточной гибели. Последняя чаще несет положительную функцию. Например, в случае атаки патогенных грибов часть листа, куда попала и начала прорастать спора гриба, гибнет, а далее высыхает, что не дает патогену возможности полноценно развиваться. Синтез АФК *de novo* может происходить при утечке электронов в любых электрон-транспортных цепях клетки, а также под действием специализированных ферментов, таких как НАДФН-оксидазы, пероксидазы типа III и некоторых других.

Защита клетки от оксидативного стресса включает три основные системы: 1) низкомолекулярные антиоксиданты (аскорбиновая кислота, глутатион, альфа-токоферол, моно- и олигосахариды и др.); 2) ферментативные антиоксиданты (каталаза, пероксидаза, глутатионредуктаза, супероксиддисмутаза и др.); 3) ферментативные системы репарации белков и ДНК.

Лабораторная работа № 12

Определение активности каталазы газометрическим методом

Вводные пояснения. Каталаза — фермент, катализирующий разложение перекиси водорода до воды и молекулярного кислорода:



Перекись водорода, образующаяся в обменных реакциях во многих физиологических процессах, токсична для клетки. Поэтому ее разложение с помощью каталазы рассматривается как защитный механизм, позволяющий избежать чрезмерного накопления АФК. В клетках растений каталаза главным образом сосредоточена в пероксисомах. Особенно велика активность каталазы в прорастающих семенах, а также в запасных органах, например клубнях, корневищах.

В данной работе предлагается определить активность каталазы по изменению объема выделившегося в результате реакции кислорода. Работа проводится на специальном приборе — каталазнике (рис. 7). Прибор состоит из колбы на 50 мл, в которую помещают гомогенизированный растительный материал и сосуд с перекисью водорода; бюретки на 50 мл; капельной воронки и трехходового крана.

Реакция разложения перекиси водорода запускается встряхиванием колбы, в результате чего растительный материал смешивается с H_2O_2 , и выделяется кислород. Определение количества кислорода, выделенного в единицу времени единицей массы растительного материала, позволяет рассчитать активность фермента.

Цель работы: установить активность каталазы в различных органах растений.

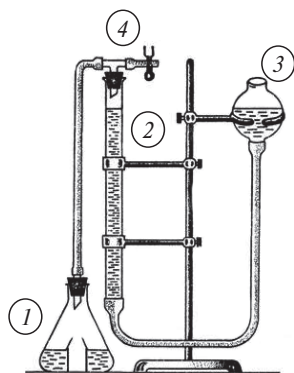


Рис. 7. Схематическое изображение каталазника: 1 — коническая колба, в которую помещается гомогенизированный растительный материал и сосуд с перекисью водорода; 2 — градуированная бюретка для регистрации объема выделяющегося кислорода; 3 — воронка для заполнения системы сообщающихся сосудов водой; 4 — трехходовый кран, сообщающий колбу с бюреткой и внешней средой

Материалы и оборудование: растительный материал (мука, прорастающие семена, клубни, листья); каталазник; фарфоровая ступка; пестик; 1 %-й KN_2PO_4 ; 3 %-й H_2O_2 ; пинцет; секундомер.

Ход работы. Сначала необходимо подготовить каталазник к работе. Для этого повернуть кран, чтобы пространство прибора сообщалось с воздухом. Налить воду в воронку так, чтобы нижний мениск в бюретке был на нулевом делении. Установить уровень воды на нуле можно регулируя ее количество в системе либо укрепляя воронку выше или ниже. Следующий этап — подготовка растительного материала. Необходимо взвесить по 1 г муки, прорастающих семян, клубней картофеля и листьев. Навеску растительного материала перенести в фарфоровую ступку и тщательно растереть с 20 мл 1 %-го раствора KN_2PO_4 или 0,5 г мела. KN_2PO_4 либо мел требуются для создания слабощелочной среды, так как оптимум pH работы каталазы составляет 7,7. Гомогенат отстаивать 5–10 мин, затем перенести в колбу каталазника. В небольшой сосуд влить 3 мл 3 %-го H_2O_2 и осторожно пинцетом поставить внутрь этой же колбы (следить, чтобы перекись не пролилась). При открытом кране осторожно закрыть колбу пробкой газометрического прибора. Повернуть кран таким образом, чтобы соединить колбу с бюреткой и закрыть выход газов наружу. Встряхнув колбу, перевернуть сосуд с H_2O_2 и одновременно включить секундомер. В результате взаимодействия гомогената, содержащего каталазу, с перекисью водорода происходит ее разложение и выделяется кислород, который приводит к увеличению давления в замкнутой системе, и происходит вытеснение воды в бюретке. Количество вытесненной воды (в мл) пропорционально количеству выделившегося в результате реакции молекулярного кислорода. Определить объем жидкости, вытесняемый кислородом за 1–2 мин, и рассчитать активность фермента в различных образцах растительного материала по формуле

$$A = \frac{V}{t \cdot m},$$

где V — объем выделившегося кислорода, мл; t — время, мин; m — масса растительного материала, г.

Результаты оформить в виде таблицы (пример оформления см. ниже).

Пример оформления таблицы

Объект исследования	Масса навески растительного материала, г	Время, мин	Объем выделившегося кислорода, мл	Активность каталазы, мл O_2 / г · мин

Сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Какую реакцию осуществляет каталаза?
2. В каких физиологических процессах растений образуется перекись водорода?
3. Функции каталазы в растениях.

Лабораторная работа № 13

Определение активности пероксидазы

Вводные пояснения. Пероксидазы включают группу ферментов, осуществляющих окисление полифенолов, ароматических аминов и других гетероциклических соединений с помощью кислорода H_2O_2 . Схематически это уравнение можно представить в виде



В растениях присутствуют разнообразные пероксидазы: НАДН-пероксидаза, НАДФН-пероксидаза, глутатион-пероксидаза, гваякол-пероксидаза, аскорбат-пероксидаза и др. Пероксидаза в разных формах встречается практически во всех клеточных компартментах, включая клеточную стенку. Данный фермент участвует в ряде важных физиологических процессов в растительной клетке (анти- и прооксидантная роль, рост и развитие, гормональная регуляция и клеточная сигнализация и др.).

Ключевая роль в разложении перекиси водорода принадлежит аскорбатпероксидазе (АПР). Детоксикация перекиси происходит с участием восстановленного аскорбата, который в ходе реакции окисляется. В растительных клетках представлены два изофермента АПР: хлоропластный и цитозольный. Установлено, что гваяколовая пероксидаза участвует в биосинтезе лигнина, окисляя фенольные соединения.

Активность пероксидазы можно установить спектрофотометрически по скорости окисления гваякола, в результате чего меняется оптическая плотность продуктов реакции.

Цель работы: определить активность пероксидазы в различных образцах растительного материала.

Материалы и оборудование: растительный материал (клубни, листья, корневища); фарфоровая ступка; пестик; 0,15 М фосфатный буфер (рН 5,4); 0,15 %-й H_2O_2 ; раствор гваякола (183 мг на 25 мл воды, готовят в день использования); секундомер.

Ход работы. Взвесить 500 мг навески растительного материала и растереть в фарфоровой ступке с 2 мл фосфатного буфера (рН 5,4) до однородной консистенции. Добавить еще 5 мл буферного раствора, перемешать и аккуратно перенести в центрифужные пробирки на 10–15 мл. Объем гомогената довести буферным раствором до метки и через 10 мин центрифугировать в течение еще 10 мин при 5000 об/мин. Прозрачный супернатант использовать для определения активности пероксидазы. Для этого в опытную кювету внести 0,5 мл раствора гваякола, 1,5 мл фосфатного буфера и 0,5 мл супернатанта, затем добавить 0,5 мл H_2O_2 , одновременно нажимая секундомер. В течение 2 мин через каждые 30 с измерять оптическую плотность раствора при 470 нм (максимум поглощения тетрагваякола). Нулевое показание прибора установить по аналогичной смеси, не содержащей перекись водорода (гваякол, фосфатный буфер, супернатант). Активность фермента выразить в относительных единицах на 1 г сырой массы по формуле

$$A = \frac{(E_4 - E_1)V \cdot V_2}{(t_2 - t_1)V_1 \cdot m},$$

где E_1 — оптическая плотность раствора в начале опыта; E_4 — оптическая плотность раствора в конце опыта; V — общий объем экстракта, мл; V_1 — объем экстракта, взятый для проведения реакции, мл; V_2 — общий объем жидкости в кювете; t_1 и t_2 — время начала и конца опыта, мин; m — сырая масса ткани, г.

Результаты оформить в виде таблицы (пример оформления см. ниже).

Пример оформления таблицы

Объект исследования	Масса навески, г	Общий объем экстракта, мл	Оптическая плотность E_{470}				Активность пероксидазы, отн. ед.
			E_1	E_2	E_3	E_4	

Сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Какую реакцию осуществляет пероксидаза?
2. Функции пероксидазы в растениях.
3. На чем основана методика определения активности пероксидазы в растениях?

Лабораторная работа № 14

Стресс-индуцируемая запрограммированная клеточная гибель у растений

Вводные пояснения. Запрограммированная клеточная гибель (ЗКГ) у растений — процесс, происходящий как в норме (в ходе отмирания клеток при развитии тканей и органов), так и во время стрессовой реакции. При сильном стрессовом воздействии растительная клетка «принимает» решение «жить или умереть», за что ответственны генетически заложенные механизмы.

В ряде случаев гибель более выгодна растению. К таким примерам относятся ответы на патогены, образование изолирующего «чехла» или «покрытия» из отмерших клеток при действии тяжелых металлов, засухи, ультрафиолета и других физико-химических факторов. В то же время в последние годы продемонстрировано, что и нежелательная гибель клеток происходит по запрограммированному пути. Объяснений данному явлению может быть несколько. Одним из наиболее вероятных считается «излишняя» реакция на стрессовое воздействие, заложенная эволюционно. В случае сильного стресса отмирание одной особи высвобождает почвенные и водные ресурсы для питания других членов популяции. Более того, отмирание одного растения может посылать сигнал об опасности другим растениям популяции при помощи выделяемых летучих или растворимых сигнальных веществ (300 таких веществ уже описано в биохимии растений). Также следует отметить, что отмирание больших групп клеток или даже отдельных органов и снижение скорости роста для высвобождения энергии на репарационные нужды является стратегией выживания многих видов растений в дикой природе. Даже небольшое количество семян дает возможность продолжить существование вида.

Классически выделяют опосредованный и некротический (внезапный) типы ЗКГ. В случае последнего клетки получают необратимые летальные повреждения, что часто сопровождается их набуханием, разрывом оболочки и выходом содержимого наружу. При опосредованной ЗКГ процесс развивается медленнее, так как требует запуска ряда метаболических реакций и работы специализированных ферментов. ЗКГ у растений начинается с раскодирования стрессового сигнала. Далее запускается программа, приводящая либо к адаптации, либо к гибели клетки. Основополагающую роль при этом играет вход ионов кальция снаружи и из внутриклеточных депо в цитоплазму. Он активируется АФК. С одной стороны, Ca^{2+} напрямую стимулирует работу ферментов ЗКГ, а именно — эндонуклеаз (расщепляющих ДНК и РНК) и протеаз (гидролизующих белки), с другой — стимулирует генетическую программу гибели. Параллельно клетка теряет калий, который является природным ингибитором эндону-

клеаз и протеаз ЗКГ, что дополнительно стимулирует активность данных ферментов. Выход калия также приводит к потере воды и сжатию клетки. При этом мембрана может сжиматься ровным слоем или разрываться. Часто в процессе ЗКГ участвует и вакуоль. Разрыв тонопласта приводит к резкому и необратимому увеличению концентрации Ca^{2+} , сильной активации эндонуклеаз и протеаз и, в конечном итоге, гибели клетки.

Если процесс гидролиза клеточного содержимого останавливается, то говорят об *автофагии* клетки. Такое развитие событий вызывает уменьшение клетки в объеме, но не завершается ее гибелью. Тем не менее в большинстве случаев индукция процессов ЗКГ приводит к отмиранию клетки.

У растений не наблюдается *апоптоза*, который характерен для некоторых клеток животных. В случае апоптоза образуются *апоптотические тела* — отдельные кусочки переваренного содержимого клетки, покрытые мембраной. В дальнейшем они захватываются и разлагаются макрофагами. У растений такого произойти не может, так как клетка окружена клеточной стенкой и отсутствуют макрофаги. После гибели ее содержимое остается внутри целлюлозной оболочки.

Весьма характерными разновидностями ЗКГ растений являются ЗКГ, вызванные засолением и окислительным стрессом. В первом случае развивается мощнейшее необратимое сжатие содержимого клетки, образуется темное пятно на месте поврежденного ядра. Во втором случае развивается повреждение мембран, их поверхность становится неровной, цитоплазма приобретает темную окраску в результате работы протеаз и окисления белков.

Цель работы: индуцировать запрограммированную клеточную гибель в тканях высших растений под действием засоления и окислительного стресса, при помощи микроскопического метода описать внешние изменения, происходящие с клетками при развитии реакций ЗКГ (симптомы ЗКГ).

Материалы и оборудование: световые микроскопы; корни и листья растений, имеющих крупные и прозрачные клетки; каллусные клетки; сухая соль CuSO_4 ; сухая соль NaCl ; перекись водорода; предметные и покровные стекла для микроскопии; чашки Петри; мерные стаканы; колбы; пинцет; секундомер.

Ход работы. Взять пять образцов растений (корней или листьев, имеющих крупные клетки, хорошо различимые в световой микроскоп) или культур растительных клеток. Подготовить следующие растворы:

- 1) водопроводная вода;
- 2) 200 мМ CuSO_4 + 200 мМ H_2O_2 ;
- 3) 2 М NaCl ;
- 4) 5 мМ CuSO_4 + 5 мМ H_2O_2 ;
- 5) 0,2 М NaCl .

Растворы готовятся на основе водопроводной воды и сразу добавляются к образцам растений. Растения должны быть полностью погружены в данные растворы, инкубация длится в течение 2 ч. В ходе инкубации растений в экспериментальных растворах проводится отбор образцов через 15, 60 и 90 мин, производится микроскопический анализ изменений (накапливающихся симптомов ЗКГ). Следует помнить, что как сами симптомы, так и скорость их развития могут отличаться у разных растений. На основе наблюдений предложить возможные подходы качественного и количественного анализа процессов ЗКГ у тестируемых видов.

Сделать рисунок клеток с обнаруженными симптомами ЗКГ. Результаты наблюдений занести в таблицу (пример оформления см. ниже).

Пример оформления таблицы

Вид исследуемого растения	Тип ткани	Время экспозиции	Описание наблюдаемых изменений в морфологии клетки
Контроль (отсутствие стрессового воздействия)			
Засоление			
Оксидативный стресс			

Контрольные вопросы

1. Что такое оксидативный стресс?
2. Каково значение оксидативного стресса в жизни растений?
3. Какие изменения в клетках растений вы наблюдали при воздействии на растения оксидативного стресса? Как вы их объясните?
4. Дайте определение понятию «запрограммированная клеточная гибель». Какова ее роль в жизни растений?

2.4. ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ К ГЛАВЕ «ФИЗИОЛОГИЯ СТРЕССА И АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ»

Вопросы

1. Что такое стресс?
2. Кто, когда и применительно к каким организмам разработал учение о стрессе?
3. Назовите типы стрессоров.

4. Перечислите основные стадии развития реакции растительного организма на действие стрессоров.

5. Дайте определение термину «адаптация».

6. Что обозначает понятие «водный дефицит»?

7. Что такое осмолитики, какие вещества относятся к осмолитикам?

8. На какие группы делятся растения по способности переносить условия засухи?

9. Чем отличаются механизмы адаптации к засухе у ксерофитов и мезофитов?

10. Какой фитогормон играет решающую роль в гормональной регуляции работы устьиц при засухе?

11. Что такое жароустойчивость?

12. Какие структуры растительной клетки повреждаются в первую очередь при перегреве?

13. Какая из тканей является наиболее устойчивой к действию высокой температуры?

14. Каким образом растения избегают перегрева?

15. Что такое белки теплового шока? Дайте их классификацию.

16. Каким образом происходит индукция БТШ?

17. Что такое холодоустойчивость?

18. Каковы границы повреждающих низких положительных температур для разных групп растений?

19. Что такое морозоустойчивость?

20. Какие причины гибели растений при отрицательных температурах являются основными?

21. Механизмы холодо- и морозоустойчивости растений.

22. Что такое криопротекторы и антифризы?

23. Как можно повысить устойчивость растений к отрицательным температурам?

24. Чем определяется тип почвенного засоления?

25. Назовите причины засоления почв.

26. Как называются растения, устойчивые к засолению?

27. Назовите механизмы солеустойчивости растений.

28. Что такое гипоксия и аноксия?

29. Какие анатомо-морфологические приспособления характерны для растений, способных переносить недостаток кислорода?

30. Что представляет собой оксидативный стресс?

31. Назовите активные формы кислорода. Как они образуются?

32. Роль АФК в жизнедеятельности растений.

33. Системы защиты клетки от накопления АФК.

34. Что такое запрограммированная клеточная гибель, ее «симптомы»?

35. Что представляет собой апоптоз? Наблюдается ли он у растений?

Тестовые задания

1. Определение понятия стресса по Г. Селье:

- а) совокупность первичных неспецифических изменений организма под влиянием любых внешних воздействий;
- б) совокупность вторичных неспецифических изменений организма под влиянием любых внешних воздействий;
- в) совокупность первичных специфических изменений организма под влиянием любых внешних воздействий;
- г) совокупность первичных неспецифических изменений организма под влиянием определенных внешних воздействий.

2. Определите, какой из фаз в концепции Г. Селье соответствует фаза первичной индуктивной стрессовой реакции растений:

- а) адаптации;
- б) истощения;
- в) тревоги;
- г) раздражения;

3. Выберите утверждения, которые верны по отношению к дистрессу:

- а) неспецифический адаптационный синдром;
- б) приводит к гибели организма;
- в) приводит к адаптации организма;
- г) вызывает необратимые повреждения клеточных структур.

4. Укажите, какие процессы происходят во время фазы адаптации:

- а) усиливаются синтетические процессы;
- б) усиливаются окислительные процессы;
- в) происходит синтез стрессовых белков;
- г) происходит стабилизация мембран;
- д) активируются гидролазы;
- е) происходит энергетическое истощение клетки.

5. Определите, какие стрессоры относятся к биотическим:

- а) засуха;
- б) засоление;
- в) низкая температура;
- г) фитопатогены.

6. Укажите, какой способ защиты от нехватки влаги используют эфемеры:

- а) предупреждение излишней траты воды;
- б) перенесение высыхания;
- в) избегание периода засухи;
- г) переход на САМ-фотосинтез.

7. Значение сахаров, накапливающихся в ходе адаптации растений к действию отрицательной температуры:

- а) снижают температуру замерзания клеточного сока, предупреждая льдообразование;
- б) приводят к интенсификации дыхания;
- в) увеличивают количество свободной воды в клетке.

8. Выберите из перечисленных соединений те, которые являются стрессовыми белками, способствующими удержанию воды:

- а) аквапорины;
- б) дегидрины;
- в) глутатион;
- г) осмотин.

9. Криопротекторы — это:

- а) вещества, предотвращающие или резко замедляющие рост кристаллов льда;
- б) вещества, предотвращающие замерзание;
- в) вещества, защищающие живые объекты от повреждающего действия замораживания.

10. Выберите из типов засоления самый токсичный:

- а) хлоридный;
- б) сульфатный;
- в) хлоридно-сульфатный;
- г) карбонатный.

11. Определите, при каком уровне солей почва считается засоленной:

- а) 0,1 %;
- б) 0,25 %;
- в) 1 %;
- г) 5 %.

12. Выведению солей из клеток способствуют:

- а) солевые железки;
- б) пояски Каспари;
- в) концентрирование солей в вакуоли;
- г) солевые волоски.

13. Укажите, какие признаки характерны для растений галофитов:

- а) накапливают соли в вакуолях;
- б) не накапливают натрий в вакуолях;
- в) имеют ксероморфные признаки;
- г) имеют гигроморфную структуру;
- д) для них характерны солевые железки.

14. Выберите из перечисленных соединений те, которые являются осмолитиками:

- а) олигосахариды;
- б) крахмал;
- в) жирные кислоты;
- г) органические кислоты.

15. Низкомолекулярные антибиотические вещества высших растений, образующиеся в ответ на контакт с фитопатогенами, называются:

- а) фитоалексины;
- б) фитонциды;
- в) аллелопатические вещества;
- г) сапогенины.

16. Определите, какие из перечисленных соединений не относятся к активным формам кислорода:

- а) триплетный кислород;
- б) синглетный кислород;
- в) перекись водорода;
- г) супероксидный анион радикал;
- д) гидроксильный радикал.

ГЛАВА 3

ПРИМЕРЫ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ ПО КУРСУ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»

3.1. ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Задача 1. Рассчитайте отношение площадь/объем цилиндрической клетки *Nitella* длиной 10 см и диаметром 1 мм и сферической клетки *Chlorella* диаметром 4 мкм.

Решение. Найдем площадь и объем клетки *Nitella*. Поскольку она представляет собой цилиндр, площадь ее поверхности

$$S_{Nit} = 2\pi r^2 + 2\pi r \cdot h = 2\pi r(r + h),$$

а объем

$$V_{Nit} = \pi r^2 \cdot h.$$

Отношение площадь/объем представляет собой выражение

$$\frac{S_{Nit}}{V_{Nit}} = \frac{2\pi r(r + h)}{\pi r^2 \cdot h} = \frac{2(r + h)}{r \cdot h}.$$

Подставляем значения и получаем, что отношение площадь/объем у клетки *Nitella* равно

$$\frac{S_{Nit}}{V_{Nit}} = \frac{2(0,05 + 10)}{10 \cdot 0,05} = 40,2 \text{ см}^{-1}.$$

Аналогичным образом проводим расчеты для клетки *Chlorella*. Поскольку она имеет сферическую форму, площадь ее поверхности и объем рассчитываются по формулам

$$S_{Ch} = 4\pi r^2, \quad V_{Ch} = \frac{4}{3}\pi r^3.$$

Отношение площадь/объем представляет собой выражение

$$\frac{S_{Ch}}{V_{Ch}} = \frac{4\pi r^2}{4/3 \cdot \pi r^3} = \frac{3}{r}.$$

Подставляем значения и получаем, что отношение площадь/объем у клетки *Chlorella*

$$\frac{S_{Ch}}{V_{Ch}} = \frac{3}{2 \cdot 10^{-4}} = 1,5 \cdot 10^4 \text{ см}^{-1}.$$

Задача 2. Определите осмотическое давление клеточного сока, если известно, что температура +23 °С, а изотонический раствор сахарозы для данной клетки имеет концентрацию 0,3 М.

Решение. Осмотическое давление (π) клеточного сока рассчитывается по формуле

$$\pi = i \cdot c \cdot R \cdot T,$$

где i – изотонический коэффициент (для растворов неэлектролитов $i = 1$); c – концентрация клеточного сока (равна изотонической концентрации); R – газовая постоянная (0,082); T – абсолютная температура ($T = t + 273 = 296$).

Находим осмотическое давление:

$$\pi = 1 \cdot 0,3 \cdot 0,082 \cdot 296 = 7,28 \text{ атм.}$$

Задача 3. Рассчитайте коэффициент проницаемости клеточной стенки толщиной 2 мкм для растворенного вещества, коэффициент диффузии которого равен $10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$. Оцените, где и во сколько раз коэффициент проницаемости больше, если известно, что в плазмалемме он составляет $10^{-9} \text{ см}^2/\text{с}$.

Решение. Коэффициент проницаемости (P) можно рассчитать по формуле

$$P = \frac{DK}{\Delta x},$$

где D – коэффициент диффузии вещества; K – коэффициент распределения (для клеточной стенки он близок к 1); Δx – толщина клеточной стенки.

Толщину клеточной стенки переводим в см ($2 \cdot 10^{-4}$ см). Используя величину коэффициента диффузии вещества, находим коэффициент проницаемости клеточной стенки

$$P = \frac{10^{-6}}{2 \cdot 10^{-4}} = 5 \cdot 10^{-3} \text{ см/с.}$$

Сравнение коэффициентов проницаемости плазмалеммы и клеточной стенки показывает, что клеточная стенка в $5 \cdot 10^6$ раз лучше проницаема для данного вещества, чем плазмалемма.

Задача 4. Рассчитайте, чему равно осмотическое давление клеточного сока, если тургорное давление составляет 4 атм, а сосущая сила 5 атм?

Решение. Сосущая сила (S) рассчитывается по формуле

$$S = \pi - T,$$

где π — осмотическое давление; T — тургорное давление.

Следовательно,

$$\pi = S + T, \pi = 5 + 4 = 9 \text{ атм.}$$

Задача 5. Определите направление движения воды в двух соседних клетках, если в первой клетке осмотическое давление клеточного сока 12 атм, тургорное — 8 атм, а у второй соответствующие показатели равны 10 и 5 атм.

Решение. Направление движения воды в двух соседних клетках будет зависеть от величины сосущей силы в них.

Сосущая сила (S) рассчитывается по формуле

$$S = \pi - T,$$

где π — осмотическое давление; T — тургорное давление.

Следовательно, в первой клетке сосущая сила составляет $S_1 = 12 - 8 = 4$ атм, а во второй $S_2 = 10 - 5 = 5$ атм. Вода будет двигаться в направлении большей сосущей силы, а именно из первой клетки во вторую.

Задача 6. Найдите, какую долю объема клетки занимают хлоропласты у сферической клетки губчатого мезофилла диаметром 40 мкм, содержащей 50 сферических хлоропластов диаметром 4 мкм.

Решение. Поскольку клетка и хлоропласты имеют сферическую форму, их объем рассчитывается по формуле

$$V = \frac{4}{3} \pi r^3.$$

Отношение объема хлоропластов к объему клетки мезофилла представляет собой выражение

$$\frac{V_{\text{хл}}}{V_{\text{мез}}} = \frac{50 \cdot 4 / 3 \cdot \pi r^3}{4 / 3 \cdot \pi R^3} = \frac{50r^3}{R^3},$$

где r — радиус хлоропластов; R — радиус клетки мезофилла.

Подставляем численные значения и рассчитываем, какую долю объема клетки занимают хлоропласты:

$$\frac{V_{\text{хл}}}{V_{\text{мез}}} = \frac{50 \cdot 2^3}{20^3} = 0,05 \text{ или } 5 \, \%.$$

3.2. ФОТОСИНТЕЗ

Задача 1. Растение с площадью листьев 10 дм^2 усвоило 330 мг CO_2 за 6 ч . Рассчитайте интенсивность фотосинтеза данного растения.

Решение. Интенсивность процесса фотосинтеза представляет собой количество углекислого газа, поглощенного за единицу времени единицей листовой поверхности растения. Интенсивность фотосинтеза рассчитывается по формуле

$$I = \frac{A_{\text{CO}_2}}{t \cdot S},$$

где A_{CO_2} — количество CO_2 , поглощенного растением; t — время, ч; S — площадь листовой поверхности растения, дм^2 .

$$\text{Следовательно, } I = \frac{330}{6 \cdot 10} = 5,5 \text{ мг/дм}^2 \cdot \text{ч}.$$

Задача 2. За 1 ч в процессе фотосинтеза растение усвоило 250 мг углекислого газа и накопило $0,1 \text{ г}$ сухой массы. Вычислите коэффициент эффективности фотосинтеза.

Решение. Коэффициент эффективности фотосинтеза — отношение количества ассимилированного углекислого газа к количеству накопленного органического вещества за определенную единицу времени. Переводим сухую массу в мг (100 мг) и рассчитываем коэффициент эффективности фотосинтеза:

$$K = \frac{250}{100} = 2,5.$$

Задача 3. Энергетический выход процесса фотосинтеза равен 0,12. Рассчитайте запасенную энергию, если поглощенная энергия составляет 640 ккал.

Решение. Энергетический выход процесса фотосинтеза представляет собой отношение запасенной энергии к поглощенной: $E = \frac{e_{\text{зап}}}{e_{\text{погл}}}$. Следовательно, запасенная в процессе фотосинтеза энергия $e_{\text{зап}} = E \cdot e_{\text{погл}} = 0,12 \cdot 640 = 76,8$ ккал.

Задача 4. За 10 сут в процессе фотосинтеза растение с площадью листьев 650 дм² накопило 156 г сухой массы. Вычислите чистую продуктивность фотосинтеза ЧПФ.

Решение. ЧПФ — количество граммов сухого вещества, накопленного в растении за сутки в пересчете на 1 м² листовой поверхности. ЧПФ находят по формуле

$$\text{ЧПФ} = \frac{m}{t \cdot S},$$

где m — масса накопленного сухого вещества, г; t — время, сут; S — площадь листовой поверхности растения, м².

Переводим площадь листьев из дм² в м² ($S = 6,5$ м²) и рассчитываем чистую продуктивность фотосинтеза: $\text{ЧПФ} = \frac{156}{10 \cdot 6,5} = 2,4$ г/м² · сут.

3.3. ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ

Задача 1. За 3 сут 2 кг клубней картофеля выделили 840 мг СО₂. Найдите интенсивность дыхания клубней.

Решение. Интенсивность дыхания — количество СО₂, выделенного за единицу времени единицей массы дышащего объекта, рассчитывается по формуле

$$I = \frac{A_{\text{CO}_2}}{t \cdot m},$$

где A_{CO_2} — количество СО₂, выделенного объектом; t — время, ч; m — масса дышащего объекта, г.

Переводим время в часы: $t = 3 \cdot 24 = 72$ ч, а массу в граммы: $m = 2 \cdot 1000 = 2000$ г.

Рассчитываем интенсивность дыхания

$$I = \frac{840}{72 \cdot 2000} = 0,0058 \text{ мг/г} \cdot \text{ч}.$$

Задача 2. Дыхательный коэффициент (ДК) семян подсолнечника 0,8. Сколько CO_2 выделяют семена при дыхании, если известно, что они поглотили 60 мг O_2 ?

Решение. Дыхательный коэффициент представляет собой отношение количества выделенного углекислого газа к количеству поглощенного кислорода:

$$\text{ДК} = \frac{[\text{CO}_2]}{[\text{O}_2]}.$$

Следовательно, количество углекислого газа, выделенного в процессе дыхания: $[\text{CO}_2] = [\text{O}_2] \cdot \text{ДК} = 60 \cdot 0,8 = 48 \text{ мг}$.

Задача 3. Сколько CO_2 выделит 1 кг семян за 10 сут, если известно, что интенсивность дыхания этих семян равна 0,2 мг CO_2 на 1 г сухой массы в час, а содержание воды в семенах 20 %?

Решение. Интенсивность дыхания — количество CO_2 , выделенного за единицу времени единицей массы дышащего объекта, рассчитывается по формуле

$$I = \frac{A_{\text{CO}_2}}{t \cdot m},$$

где A_{CO_2} — количество CO_2 , выделенного дышащим объектом; t — время, ч; m — масса дышащего объекта, г.

Из этой формулы следует, что $A_{\text{CO}_2} = I \cdot t \cdot m$.

Переводим время в часы: $t = 10 \cdot 24 = 240$ ч, а массу семян — в сухую массу в граммах: $m = 1000 \cdot 0,2 = 2000$ г.

Рассчитываем количество углекислого газа, выделенного в процессе дыхания семян: $A_{\text{CO}_2} = 0,15 \cdot 240 \cdot 200 = 7200 \text{ мг} = 7,2 \text{ г}$.

3.4. ВОДНЫЙ РЕЖИМ РАСТЕНИЙ

Задача 1. Древесное растение, имеющее листовую поверхность 58 м^2 , испарило за 8 ч 32 кг воды. Определите интенсивность транспирации.

Решение. Интенсивность транспирации (I) представляет собой количество воды, испаренное единицей площади листа за единицу времени, и рассчитывается по формуле

$$I = \frac{V}{t \cdot S},$$

где V — объем испаренной воды, г; t — время, ч; S — площадь листьев, м^2 .

$$I = \frac{32\,000}{8 \cdot 58} = 69 \text{ г/м}^2\text{ч}.$$

Задача 2. Капиллярное поднятие воды в сосудах ксилемы диаметром 2 мм составляет 1,5 см. Определите, как высоко поднимется вода в сосудах, радиус которых равен 1 мкм?

Решение. Величину подъема жидкости в капилляре рассчитывают по формуле

$$h = \frac{2\delta}{\rho \cdot g \cdot r},$$

где h — высота поднятия столба жидкости, см; δ — сила поверхностного натяжения (дин/см); ρ — плотность воды (принимая за 1); g — ускорение свободного падения (980 см/с²); r — радиус капилляра, см.

Величину диаметра капилляра переводим из мм в см (0,2 см) и находим радиус (0,1 см). Из формулы высчитываем поверхностное натяжение воды в сосудах ксилемы:

$$\delta = \frac{h \cdot \rho \cdot g \cdot r}{2} = 73,5 \text{ дин/см.}$$

Подставляем в формулу численные значения и находим высоту поднятия воды в сосуде ксилемы радиусом 1 мкм (10^{-4} см):

$$h = \frac{2 \cdot 73,5}{1 \cdot 980 \cdot 10^{-4}} = 1500 \text{ см} = 15 \text{ м.}$$

Задача 3. Сколько воды испарит растение за 30 мин, если интенсивность его транспирации равна 85 г/м² ч, а площадь листьев 150 дм²?

Решение. Интенсивность транспирации (I) представляет собой количество воды, испаренное единицей площади листа за единицу времени, и рассчитывается по формуле

$$I = \frac{V}{t \cdot S},$$

где V — объем испаренной воды, г; t — время, ч; S — площадь листьев, м².

Следовательно, количество испаренной воды $V = I \cdot t \cdot S$.

Переводим мин в ч ($t = 0,5$ ч), а площадь листьев из дм² в м² ($S = 1,5$ м²) и рассчитываем количество испаренной воды:

$$V = 85 \cdot 0,5 \cdot 1,5 = 63,75 \text{ г.}$$

Задача 4. Найдите продуктивность транспирации растения, если известно, что транспирационный коэффициент равен 200 мл/г.

Решение. Транспирационный коэффициент — отношение количества испаренной воды к количеству накопленного органического веще-

ства. Продуктивность транспирации (P) — обратная величина, а именно — количество органического вещества, которое синтезировалось при испарении 1 л воды:

$$P = \frac{m}{V},$$

где m — масса накопленного органического вещества, г; V — объем испаренной воды, л.

Переводим мл в л (0,2 л) и рассчитываем продуктивность транспирации:

$$P = \frac{1}{0,2} = 5 \text{ г/л.}$$

Задача 5. Определите скорость расходования воды (экономичность транспирации), если интенсивность транспирации составляет 0,25 г/дм² в час, поверхность листьев — 120 см², сырая масса растения — 8 г, а абсолютно сухая — 0,9 г.

Решение. Экономичность транспирации — количество воды, испаренное растением за единицу времени в процентах от общего запаса воды в растении.

Рассчитываем количество воды, испаренное растением за единицу времени (v). Для этого интенсивность транспирации умножаем на площадь поверхности листьев в дм²: $v = 0,25 \cdot 1,2 = 0,3$ г.

Определяем общий запас воды в растении: $V_{\text{общ}} = 8 - 0,9 = 7,1$ г.

Рассчитываем экономичность транспирации по формуле

$$E_{\text{тр}} = \frac{v}{V_{\text{общ}}} 100 \% = \frac{0,3}{7,1} 100 \% = 4,2 \%.$$

Задача 6. За вегетационный период растение накопило 1,5 кг органического вещества и испарило 250 л воды. Определите продуктивность транспирации.

Решение. Продуктивность транспирации (P) представляет собой количество органического вещества, которое синтезировалось растением при испарении 1 л воды:

$$P = \frac{m}{V},$$

где m — масса накопленного органического вещества, г; V — объем испаренной воды, л.

Переводим кг в г (1500 г) и рассчитываем продуктивность транспирации:

$$P = \frac{1500}{250} = 6 \text{ г/л.}$$

3.5. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ

Задача 1. Определите, за какое время вещество, коэффициент диффузии которого составляет $1,92 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$, диффундирует и равномерно распределится в растительной клетке с диаметром 70 мкм.

Решение. Время диффузии вещества можно рассчитать по формуле (следствие 2-го закона Фика)

$$x^2 = 4Dt,$$

где x – расстояние, см; D – коэффициент диффузии вещества, $\text{см}^2/\text{с}$; t – время, с.

Рассчитываем время диффузии

$$t = \frac{x^2}{4D}, \quad t = \frac{(7 \cdot 10^{-5})^2}{4 \cdot 1,92 \cdot 10^{-5}} = 0,64 \text{ с.}$$

Задача 2. Чему равен коэффициент диффузии вещества, если известно, что за 1 ч оно диффундирует на расстояние 3 мм от точки введения? Сколько нужно времени, чтобы это вещество диффундировало на расстояние 9 см от места введения?

Решение. Согласно следствию 2-го закона Фика

$$x^2 = 4Dt,$$

где x – расстояние, см; D – коэффициент диффузии вещества, $\text{см}^2/\text{с}$; t – время, с.

Из формулы рассчитываем коэффициент диффузии и время:

$$D = \frac{x^2}{4t} = \frac{0,3^2}{4 \cdot 3600} = 6,25 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с};$$

$$t = \frac{x^2}{4D} = \frac{9^2}{4 \cdot 6,25 \cdot 10^{-6}} = 3,2 \cdot 10^6 \text{ с.}$$

Задача 3. Рассчитайте, на какое расстояние за 10 мин диффундируют ионы кальция, коэффициент диффузии которых составляет $1,19 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$?

Решение. Расстояние, на которое диффундируют ионы, рассчитывается по формуле (следствие 2-го закона Фика)

$$x^2 = 4Dt, \quad x = \sqrt{4Dt},$$

где x — расстояние, см; D — коэффициент диффузии вещества, $\text{см}^2/\text{с}$; t — время, с.

Подставляем значения в формулу и находим:

$$x = \sqrt{4 \cdot 1,19 \cdot 10^{-5} \cdot 600} = 0,17 \text{ см.}$$

ПРИЛОЖЕНИЕ

1. УЧЕБНАЯ ПРОГРАММА ПО КУРСУ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»

Пояснительная записка

Типовая учебная программа по курсу «Физиология растений» составлена в соответствии с требованиями стандартов высшего образования первой ступени по специальностям 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)», 1-31 01 02 «Биохимия», 1-31 01 03 «Микробиология».

Физиология растений – одна из важнейших фундаментальных дисциплин в системе высшего биологического образования, тесно связанная с ботаникой, биохимией, генетикой, а также другими разделами биологии. Физиология растений является методологической основой для изучения структуры и функциональной активности растительных систем на всех уровнях их организации. Данная дисциплина дает студентам знания об особенностях организации, закономерностях функционирования и способах регуляции физиологических процессов растений, необходимые высококвалифицированным специалистам-биологам и биоэкологам. Освоение программы курса будет способствовать их развитию как специалистов, обладающих фундаментальными знаниями и практическими навыками, необходимыми при проведении исследований на современном научно-методическом уровне.

Подготовка специалистов-биологов направлена на получение ими информации не только о структурных и функциональных свойствах основных классов природных веществ, но и механизмах регуляции и взаимосвязи биохимических процессов, протекающих в растительном организме. Связь с практикой, сельским хозяйством и экологией также является одним из ключевых требований современного биологического образования.

Курс «Физиология растений» состоит из введения и семи основных разделов, в которых рассматриваются физиологические функции растений. Особое внимание уделяется вопросам регуляции и интеграции процессов на разных уровнях организации растительного организма, а также их взаимосвязи с продуктивностью сельскохозяйственных растений и поддержанием биоразнообразия.

Программа курса составлена с учетом междисциплинарных связей и программ по смежным курсам химического и биологического профиля («Органиче-

ская химия», «Физическая и коллоидная химия», «Биохимия», «Генетика», «Цитология», «Молекулярная биология» и др.).

Цель курса: сформировать у студентов целостную систему знаний о физиолого-биохимических процессах и механизмах их регуляции на разных уровнях организации растительного организма.

Задачи курса:

1) представить основные сведения о фундаментальных физиолого-биохимических процессах, происходящих на разных уровнях организации растительного организма;

2) ознакомить студентов с современными методическими и практическими разработками по основному разделу физиологии растений;

3) рассмотреть механизмы взаимодействия растительного организма с окружающей средой и контроля продуктивности и устойчивости культурных растений.

В результате изучения дисциплины студент должен:

знать:

- основные понятия, закономерности функционирования метаболических систем и механизмы их регуляции в растительном организме;

- физико-химические подходы и методы изучения растительного организма на разных уровнях организации;

- проблемы, достижения в области физиологии растений и перспективы их использования для повышения продуктивности растений;

уметь:

- использовать основные закономерности функционирования растительного организма в качестве научной основы земледелия, растениеводства, биотехнологии и устойчивого развития;

- использовать методы теоретического и экспериментального исследований в фитофизиологии;

- проводить поиск и систематизировать научную информацию по отдельным разделам физиологии растений;

владеть:

- основными приемами обработки экспериментальных данных;
- методами оценки показателей физиологических процессов на разных уровнях организации.

Программа рассчитана на 210 часов, в том числе 112 часов аудиторных: 56 лекционных и 56 лабораторных занятий.

Примерный тематический план

№ темы	Наименование тем	Аудиторные часы		
		Всего	Лекции	Лабораторные занятия
I	Введение	2	2	—
II	Структурно-функциональная организация растительной клетки	12	4	8

№ темы	Наименование тем	Аудиторные часы		
		Всего	Лекции	Лабораторные занятия
III	Фотосинтез	30	14	16
IV	Дыхание растений	16	8	8
V	Водный обмен растений	16	8	8
VI	Минеральное питание растений	16	8	8
VII	Рост и развитие растений	12	8	4
VIII	Физиология стресса	8	4	4
Итого		112	56	56

Содержание учебного материала

1. Введение

Предмет физиологии растений. Молекулярный, физико-химический, экологический и эволюционный аспекты физиологии растений. Объект физиологии растений, его особенности. Разнообразие объектов, характеризующихся фототропным образом жизни. Задачи физиологии растений. Этапы развития физиологии растений, ее связь с общим развитием биологии и практикой. Основные научные центры, занимающиеся проблемами физиологии растений в Беларуси и за рубежом.

Проблемы современной физиологии растений. Тематика и задачи новых разделов физиологии растений, таких как геномика, феномика, метаболомика, биоинформатика, системная биология растений, молекулярная биотехнология и др. Физиология растений и проблемы современной цивилизации: генетическая модификация организмов, глобальное потепление, экологические изменения, устойчивое производство продуктов питания и биотоплива, поддержание биоразнообразия.

II. Структурно-функциональная организация растительной клетки

Молекулярная структура компонентов растительной клетки, особенности их строения в связи с биологической функцией. Клеточная стенка. Понятие апопласта и симпласта. Цитоплазма. Ядро. Пластиды. Рибосомы, митохондрии, вакуоль, плазмодесмы, микротрубочки, микрофиламенты, пероксисомы, лизосомы. Эндоплазматический ретикулум. Аппарат Гольджи. Физико-химические свойства цитоплазмы, ее взаимодействие с внешней средой. Структура и функция мембран растительной клетки. Проницаемость мембран. Принципы регуляции физиологических процессов на клеточном уровне. Функциональное взаимодействие отдельных компартментов клетки. Жизненный цикл растительной клетки.

III. Фотосинтез

Физико-химическая сущность фотосинтеза и его роль в процессах энергетического и пластического обмена растительного организма. Общие закономерности и значение фотосинтеза.

Структурная организация фотосинтетического аппарата. Лист как орган фотосинтеза. Хлоропласты, их строение, биохимический состав и функции. Биогенез хлоропластов. Пигментные системы фотосинтезирующих организмов. Хлорофиллы, их строение, химические и физические свойства. Роли отдельных структурных частей в молекуле хлорофилла. Основные стадии и химизм реакций биосинтеза хлорофилла. Функции хлорофиллов. Каротиноиды, их строение, классификация, свойства и функции. Билихромопротеины (фикобилины). Структура, свойства и функции билихромопротеинов.

Организация и функционирование пигментных систем. Поглощение света пигментами. Электронно-возбужденные состояния пигментов и типы дезактивации возбужденных состояний. Миграция энергии в системе фотосинтетических пигментов. Понятие о светособирающем комплексе, фотосинтетической единице и реакционных центрах. Представление о молекулярной структуре, механизмах функционирования и взаимодействия двух фотосистем. Принцип организации и регуляция функционирования электрон-транспортной цепи фотосинтеза. Строение и роль отдельных элементов фотосинтетической электрон-транспортной цепи. Фотофосфорилирование, его типы, характеристика. Структура и механизм работы комплекса АТФ-синтазы.

Классификация растений по метаболизму CO_2 в фотосинтезе. Метаболизм углерода в процессе фотосинтеза. C_3 -путь фотосинтеза, основные этапы, их характеристика. Природа первичного акцептора углекислоты. C_4 -путь фотосинтеза, его особенности и характеристика. Метаболизм углерода по типу толстяковых (САМ-цикл). Фотодыхание и метаболизм гликолевой кислоты (C_2 -путь).

Показатели фотосинтеза: интенсивность, фотосинтетический потенциал, индекс листовой поверхности. Фотосинтез и урожай. Зависимость фотосинтеза от факторов внешней среды. Эндогенная регуляция фотосинтеза. Современные методы изучения фотосинтеза.

IV. Дыхание растений

Значение дыхания в жизни растений. История развития представлений о дыхании растений. Теория В. И. Палладина. Показатели дыхания: интенсивность и дыхательный коэффициент.

Ферментные системы дыхания. Участие ферментов различных классов в дыхании. Дыхательные субстраты. Пути диссимиляции углеводов. Гликолиз, его суть, энергетика. Цикл ди- и трикарбоновых кислот, цикл Кребса – Корнберга. Окислительный пентозофосфатный цикл и его роль в метаболизме.

Использование в качестве дыхательных субстратов жиров и белков. Взаимосвязь превращения углеводов, белков и жиров.

Митохондрии, их структура и функции. Электрон-транспортная цепь дыхания, характеристика ее компонентов. Окислительное фосфорилирование в элек-

трон-транспортной цепи, энергетическая эффективность. Субстратное и окислительное фосфорилирование.

Зависимость дыхания от внутренних и внешних факторов. Особенности дыхания растений.

V. Водный обмен растений

Структура и физико-химические свойства воды. Роль воды в жизнедеятельности растений. Термодинамические основы водообмена растений: активность воды, химический потенциал воды, водный потенциал и его составляющие.

Поступление воды в растение. Механизм транспорта воды через плазматические мембраны. Молекулярная организация и функции аквапоринов (водных каналов), регуляция их работы. Водный баланс растений. Градиент водного потенциала — движущая сила поступления и передвижения воды в клетках, тканях и растениях. Закономерности поступления воды в клетку.

Корневая система как орган поглощения воды. Нижний и верхний концевой двигатели. Корневое давление, его значение и зависимость от действия внешних факторов. Движущие силы восходящего тока воды. Процессы когезии и адгезии. Гуттация, ее механизм.

Транспирация. Биологическое значение транспирации. Устьичная, внеустьичная транспирация и молекулярная физиология устьичных движений. Показатели транспирации: интенсивность, транспирационный коэффициент, коэффициент водопотребления. Влияние на транспирацию экзогенных и эндогенных факторов.

VI. Минеральное питание растений

Элементы минерального питания, необходимые для жизнедеятельности растений. Макроэлементы: азот, фосфор, калий, сера, кальций, магний. Микроэлементы: железо, медь, марганец, цинк, молибден, кобальт, бор. Роль микро- и макроэлементов в растениях и функциональные нарушения при их недостатке. Структурная и каталитическая функции ионов в метаболизме.

Представления о взаимодействии ионов: антагонизм, синергизм, аддитивность. Молекулярные основы этих взаимодействий. Поступление минеральных веществ. Транспорт ионов через плазматическую мембрану. Пассивный и активный транспорт. Ионные каналы, их строение и функциональная активность. Роль транспортеров и транспортных АТФаз. Структура и основные типы АТФаз. Значение регуляции мембранного потенциала для процессов поступления ионов в клетку.

Ближний транспорт ионов. Радиальное перемещение ионов в корне: симпластический и апопластический пути. Функции корневых тканей в радиальном транспорте. Дальний транспорт ионов в растении. Восходящий и нисходящий ток минеральных элементов и веществ в растении. Пространственная организация ионного транспорта в корне. Интеграция и регуляция транспорта в целом растении. Рационализация минерального питания как важнейший фактор повышения продуктивности сельскохозяйственных растений.

VII. Рост и развитие растений

Общие закономерности роста и развития растений. Кривая роста. Определение понятий «онтогенез», «рост» и «развитие». Периодизация онтогенеза. Показатели роста растений.

Молекулярные и клеточные основы роста и развития. Классические и современные теории роста растяжением растительной клетки. Локализация роста у растений. Полярность. Тотипотентность. Зависимость роста от почвенно-экологических факторов. Явление покоя, его адаптивная функция.

Фитогормоны как химические факторы, регулирующие рост и развитие растений. Основные группы фитогормонов: ауксины, гиббереллины, цитокинины, абсцизовая кислота, этилен. Новые гормоноподобные соединения: брассиностероиды, жасмоновая и салициловая кислоты, системин и др. Локализация биосинтеза фитогормонов в растении и их транспорт. Особенности действия фитогормонов на рост растений.

Синтетические регуляторы роста, их природа и использование: гербициды, ретарданты, регуляторы созревания и покоя, дефолианты.

Движение растений, тропизмы и настии.

Развитие растений, основные этапы развития. Жизненный цикл растений. Термопериодизм. Фотопериодизм. Регуляция фотопериодических реакций фитохромом. Физиология цветения и старения растений. Механизмы клеточной смерти у растений.

VIII. Физиология стресса

Общие понятия. Стресс, адаптация, устойчивость. Триада Селье в приложении к растениям. Обратимые и необратимые повреждения тканей и органов растений. Критические периоды воздействия стрессовых факторов на растения. Стресс как основной фактор, лимитирующий продуктивность сельскохозяйственных растений.

Молекулярные и клеточные механизмы восприятия стрессовых сигналов. Роль Ca^{2+} и редокс-сигналикации в развитии первичной стрессовой реакции.

Засоление почв, его причина и последствия для сельского хозяйства, биосферы и человечества. Молекулярные и клеточные механизмы повреждения растений при засолении. Механизмы солеустойчивости растений.

Действие пониженных и повышенных температур на растения. Механизмы адаптации растений к изменению температуры. Физиолого-биохимическая природа устойчивости растений к отрицательным температурам.

Водный дефицит и засухоустойчивость растений. Совместное действие на растения недостатка влаги и высокой температуры. Особенности устойчивости у мезофитов и ксерофитов.

Влияние на растения избытка влаги, факторы, обуславливающие устойчивость растений при затоплении. Влияние гипоксии на растения, адаптивные изменения в условиях гипоксии.

Газоустойчивость растений.

Повреждение растений при патогенной атаке. Молекулярные механизмы распознавания химических и физических сигналов патогенов на поверхности клетки. Система усиления стрессового сигнала и развитие реакции гиперчувствительности. Механизмы устойчивости растений к патогенным организмам.

Список рекомендуемой литературы

Основной

- Кузнецов, В. В. Физиология растений : учеб. для вузов / В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. М., 2005.
- Медведев, С. С. Физиология растений : учебник / С. С. Медведев. СПб., 2012.
- Полевой, В. В. Физиология растений / В. В. Полевой. М., 1989.
- Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]. М., 1998.
- Физиология растений : учеб. для студентов вузов / Н. Д. Алехина [и др.]. М., 2005.
- Юрин, В. М. Физиология растений : учебник / В. М. Юрин. Минск, 2010.
- Якушкина, Н. И. Физиология растений : учеб. для студентов вузов, обучающихся по специальности «Биология» / Н. И. Якушкина, Е. Ю. Бахтенко. М., 2005.

Дополнительный

- Биохимия / В. Г. Щербаков [и др.]. СПб., 2003.
- Гудвин, Т. Введение в биохимию растений : в 2 т. / Т. Гудвин, Э. Мерсер. М., 1986. 2 т.
- Избранные главы физиологии растений : учеб. пособие / В. Ф. Гавриленко [и др.]. М., 1986.
- Кнорре, Д. Г. Биологическая химия / Д. Г. Кнорре, С. Д. Мызина. М., 1998.
- Кретович, В. Л. Биохимия растений / В. Л. Кретович. М., 1986.
- Молекулярная биология клетки : в 5 т. / Б. Албертс [и др.]. М., 1987. Т. 5.
- Терминология роста и развития растений / под ред. М. Х. Чайлахяна. М., 1983.

Методические рекомендации по организации самостоятельной работы студентов

Для изучения физиологии растений, подготовки к практическим занятиям и управляемой самостоятельной работе студентам можно использовать один из учебников, перечисленных в основном списке литературы. Для более углубленной подготовки предлагается дополнительный список литературы, включающий учебные пособия по физиологическим методам.

Для организации самостоятельной работы студентов рекомендуется использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом досту-

пе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, методические указания к лабораторным занятиям, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, задания в тестовой форме для самоконтроля и др.).

Эффективность самостоятельной работы целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний в форме устного опроса, семинаров, коллоквиумов, тестового компьютерного контроля по темам и разделам курса. Для общей оценки качества усвоения студентами учебного материала рекомендуется использование накопительной рейтинговой системы.

Перечень рекомендуемых средств диагностики

Типовыми учебными планами специальностей 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)», 1-31 01 02 «Биохимия», 1-31 01 03 «Микробиология» в качестве формы итогового контроля по учебной дисциплине рекомендован экзамен. Оценка учебных достижений студента осуществляется на экзамене и производится по десятибалльной шкале.

Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами можно использовать следующий диагностический инструментарий:

- защита индивидуальных заданий при выполнении лабораторных работ;
- защита подготовленного студентом реферата;
- устные опросы;
- письменные контрольные работы по отдельным темам курса;
- компьютерное тестирование.

2. ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Адаптация — генетически детерминированный процесс формирования защитных систем, обеспечивающих повышение устойчивости и протекание онтогенеза растительного организма в ранее неблагоприятных для него условиях.

Адгезия — силы сцепления молекул воды со стенками сосуда.

Аддитивность — отсутствие влияния одного соединения на характер действия другого, при этом физиологическая реакция смеси веществ равна сумме действия каждого отдельного соединения.

Аноксия — полное отсутствие кислорода.

Антагонизм — ослабление или подавление физиологического эффекта смеси веществ по сравнению с действием отдельных соединений.

Антиоксиданты — природные или синтетические соединения, замедляющие или предотвращающие процессы окисления органических веществ.

Антистрессовые препараты — препараты, повышающие устойчивость растений в стрессовых условиях.

Антипорт — сопряженный перенос через мембрану двух различных веществ в противоположных направлениях.

Акклимация — процесс повышения устойчивости растений к стрессовому фактору путем закаливания или серии подпороговых стрессовых воздействий.

Активный транспорт — перемещение веществ через избирательно проницаемую мембрану против градиента электрохимического потенциала с затратой метаболической энергии (как правило, в форме АТФ или редокс-цепей).

Апикальный рост — верхушечный рост органа растения; характерен для стеблей и корней.

Апикальное доминирование — подавление роста боковых побегов (или корней) под влиянием верхушки побега (или корня).

Апопласт — совокупность клеточных стенок, а для многоклеточного организма — и межклеточных пространств, а также полостей мертвых трахеид и сосудов ксилемы.

Ассимиляционное число — отношение количества поглощенного углекислого газа к количеству хлорофилла, содержащегося в листе.

АТФ-синтаза (сопрягающий фактор) — мультиферментный комплекс, осуществляющий сопряжение транспорта протонов через мембрану с синтезом АТФ.

Базипетальный транспорт — транспорт веществ в растении от вершины органа к основанию.

Водный дефицит — нарушение равновесия между поступлением воды и ее испарением в случае превышения испарения.

Водный потенциал — разность между свободной энергией H_2O внутри и вне клетки при той же температуре и атмосферном давлении; разность химического потенциала H_2O в клетке и химического потенциала чистой H_2O , отнесенная к парциальному молярному объему H_2O в клетке.

Галофиты — растения, произрастающие на засоленных почвах.

Газоустойчивость — способность растений сохранять жизнедеятельность при наличии в атмосфере вредных газов.

Гидратная оболочка — водная оболочка, окружающая заряженные макромолекулы и ионы.

Гипоксия — недостаток кислорода.

Гипотонический раствор — раствор вещества, осмотическое давление которого ниже осмотического давления внутри клетки.

Гипертонический раствор — раствор вещества, осмотическое давление которого выше осмотического давления внутри клетки.

Гуттация — выделение воды на поверхности листьев через гидатоды, обусловленное корневым давлением и наблюдающееся при насыщении воздуха водяными парами.

Дальний транспорт — транспорт веществ между органами.

Деплазмолиз — процесс возвращения протопласта плазмолизированной клетки в исходное состояние при ее помещении в гипотонический раствор или воду.

Детерминация — приобретение клеткой, тканью, органом, организмом способности к реализации определенных наследственных свойств.

Дифференциация — комплекс процессов, приводящих к возникновению качественных различий между клетками, тканями, органами.

Дифференцировка — состояние специализации клеток, отличающее их от других.

Доминирование — проявление действия гена одного родительского генома, тогда как гомологичный ген другого родительского генома присутствует, но не проявляется.

Дыхание — совокупность окислительно-восстановительных реакций, в результате которых происходит окисление сложных органических веществ и фиксирование освободившейся энергии в макроэргических связях АТФ.

Дыхательный коэффициент — отношение количества выделенного углекислого газа к количеству поглощенного кислорода.

Дыхательный контроль — зависимость дыхательных процессов от соотношения количества АТФ и АДФ.

Жароустойчивость (термотолерантность) — устойчивость растений к высоким температурам.

Зольные элементы — минеральные элементы, остающиеся после сжигания растения.

Изотонический раствор (изоосмотический раствор) — раствор, имеющий одинаковое с клеткой осмотическое давление.

Индекс листовой поверхности (ИЛП) — отношение суммарной поверхности всех листьев к площади почвы, занимаемой данным растением.

Интенсивность дыхания — количество кислорода, поглощенного за 1 ч одним граммом сухого (или сырого) растительного материала; количество углекислого газа, выделенного за единицу времени одним граммом растительного сырья.

Интенсивность (скорость) транспирации — количество граммов воды, испаренной с единицы поверхности листьев за 1 ч.

Интенсивность (скорость) фотосинтеза — количество миллиграммов CO_2 , поглощенного 1 дм^2 листовой поверхности за единицу времени.

Ионный канал — белковая макромолекула, образующая пору в липидном бислое и осуществляющая пассивный транспорт ионов через мембрану.

Квантовый расход фотосинтеза — отношение числа поглощенных квантов света к числу ассимилированных молекул углекислого газа.

Квантовый выход фотосинтеза — обратная квантовому расходу величина.

Когезия — силы сцепления молекул воды между собой.

Компенсационная точка — освещенность, при которой интенсивность фотосинтеза равна интенсивности дыхания; в ней световая кривая пересекает ось абсцисс.

Кооперативный фотосинтез — совместное функционирование C_3 - и C_4 -циклов.

Коэффициент хозяйственной эффективности — доля хозяйственно важной части урожая к общей массе растения.

Коэффициент эффективности фотосинтеза — отношение количества ассимилированного углекислого газа к количеству накопленного органического вещества за единицу времени.

Кросс-адаптация — повышение устойчивости растения к данному неблагоприятному фактору в результате его адаптации к фактору другой природы.

Меристема — образовательная ткань с активно делящимися клетками.

Металлотионеины — низкомолекулярные полипептиды, содержащие большое количество цистеина и активно связывающие металлы.

Морозоустойчивость — способность растений переносить температуру ниже 0 °С.

Морфогенез — формообразование, включает в себя процессы заложения, роста и развития клеток (цитогенез), тканей (гистогенез), органов (органогенез), которые генетически запрограммированы и скоординированы между собой.

Настий — движение органов растения, вызываемое раздражителем, не имеющим строгого направления, а действующим равномерно на растение.

Онтогенез — индивидуальное развитие организма.

Осмоз — односторонняя диффузия молекул воды или другого растворителя через избирательно проницаемую мембрану по градиенту водного потенциала.

Осмотическое давление — давление, создаваемое растворенными веществами и препятствующее одностороннему току растворителя (воды) через избирательно проницаемую мембрану.

Относительная транспирация — отношение интенсивности транспирации к скорости испарения воды со свободной поверхности такой же площади.

Пасока — содержимое сосудов ксилемы, вытекающее при их повреждении.

Пассивный транспорт — перемещение веществ через избирательно проницаемую мембрану по градиенту электрохимического потенциала (простая и облегченная диффузия).

Пигменты — органические вещества, присутствующие в тканях живых организмов и избирательно поглощающие свет в видимой части спектра.

Пигмент-ловушка — пигмент, входящий в состав реакционного центра и способный осуществлять запуск фотохимической реакции.

Пигменты-сборщики — пигменты, поглощающие свет видимой области спектра и передающие поглощенную энергию квантов пигменту-ловушке.

Плазмолиз — процесс сжатия протопласта, происходящий вследствие выхода воды из клетки при ее погружении в гипертонический раствор.

Плач растений — вытекание пасоки из поврежденных сосудов ксилемы, обусловленное корневым давлением.

Покой — состояние целого растения или отдельных его органов, при котором отсутствует видимый рост.

Покой вынужденный — состояние растительного организма, при котором видимый рост не наблюдается из-за отсутствия необходимых внешних условий (пониженная температура, отсутствие воды, недостаток кислорода, света).

Покой глубокий (органический) — состояние, вызванное внутренними факторами, когда видимый рост отсутствует, несмотря на благоприятные условия внешней среды.

Продуктивность транспирации — количество граммов сухого вещества, накопленного в растении при испарении 1000 г воды.

Протопласт — растительная клетка, лишенная клеточной стенки.

Радиальный транспорт — транспорт воды и растворенных веществ от поверхности корня к проводящей системе и от проводящей системы к поверхности листа.

Развитие — качественные изменения в структуре и функциональной активности растительного организма и его частей в процессе онтогенеза.

Реакционный центр — пигмент-белковый комплекс, способный к первичному фотохимическому разделению зарядов.

Реутилизация — вторичное использование элемента минерального питания растением.

Рост — количественные изменения, которые заключаются в необратимом увеличении размеров, массы клетки, органа или всего организма и сопровождающиеся новообразованием элементов их структур.

Светособирающая антенна — пигмент-белковый комплекс, осуществляющий поглощение квантов света и передачу энергии электронного возбуждения на реакционный центр.

Световая фаза фотосинтеза — совокупность процессов, в результате которых за счет энергии света синтезируются молекулы АТФ и происходит образование восстановленного НАДФН.

Световая кривая фотосинтеза — зависимость скорости фотосинтеза от интенсивности освещения.

Симпласт — пространство, находящееся с внутренней стороны плазмалеммы; состоит из объединенного плазмодесмами множества протопластов (включая и протопласты ситовидных трубок флоэмы) и ограничен объединенной плазматической мембраной всех живых клеток.

Симпорт — сопряженный перенос через мембрану двух различных веществ в одном направлении.

Синергизм — усиление физиологического эффекта смеси веществ по сравнению с действием отдельных элементов данной смеси.

Солеустойчивость (галотолерантность) — устойчивость растений к повышенной концентрации солей в почве или воде.

Сосущая сила (S) — сила, равная разности между осмотическими тургорным давлением в клетке и обеспечивающая поступление воды в клетку.

Стратификация — длительное выдерживание семян растений при пониженных положительных температурах для ускорения их прорастания.

Стресс (неспецифический адаптационный синдром) — совокупность неспецифических реакций организма, возникающих под влиянием неблагоприятных факторов (стрессоров).

Стресс-толерантность, или устойчивость — способность растения переносить действие неблагоприятных факторов и давать в таких условиях потомство.

Темновая фаза фотосинтеза — комплекс биохимических реакций, в результате которых происходит восстановление поглощенного листом CO_2 за счет продуктов световой фазы (АТФ и НАДФН) и образование органических веществ.

Транспирация — физиологический процесс испарения воды надземными органами растения.

Транспирационный коэффициент — количество граммов воды, израсходованной растением при накоплении 1 г сухого вещества.

Тропизмы — изменения положения органов, вызываемые односторонне действующим внешним раздражителем.

Тургорное давление — гидростатическое давление протопласта на клеточную стенку.

Тургорное натяжение — давление клеточной стенки на протопласт.

Унипорт — перенос вещества через мембрану, не сопряженный с транспортом других веществ.

Уравновешенный раствор — раствор, в котором питательные элементы находятся в соотношениях, позволяющих растению наиболее эффективно их использовать.

Урожай биологический — количество органического вещества, образованного растениями в течение вегетационного периода, на единицу площади занимаемых посевов.

Урожай хозяйственный — количество хозяйственно важной части урожая (плоды, зерна, клубни и др.) на единицу площади занимаемых посевов.

Физиологическая засуха — состояние, при котором растение испытывает водный дефицит, несмотря на достаточное количество воды в окружающей среде.

Физиологический показатель эффективности дыхания (Р/О) — отношения числа молей неорганического фосфата, использованного для фосфорилирования АДФ (Р), к количеству поглощенного кислорода (О).

Фитогормоны — природные и синтетические соединения, необходимые для запуска и регуляции физиологических и морфогенетических программ растения и вызывающие специфическую ростовую или формообразовательную реакцию.

Фитохелатины — пептиды, которые синтезируются в ответ на обработку растения тяжелыми металлами и активно связывающие их.

Фитохром — фоторецептор из группы хромопротеидов, воспринимающий красный свет и участвующий в фоторегуляции процессов прорастания семян, цветения, фотопериодических явлениях и запускающий морфогенетические реакции.

Фотолиз воды — процесс окисления воды в ходе световой стадии фотосинтеза.

Фотопериод (фотопериодический цикл) — соотношение длины дня и ночи.

Фотопериодизм — реакция растения на соотношение продолжительности дня и ночи, связанная с приспособлением онтогенеза к сезонным изменениям внешних условий.

Фотосинтез — процесс образования органических веществ из углекислого газа и воды с помощью световой энергии при участии фотосинтетических пигментов.

Фотосинтетически активная радиация (ФАР) — электромагнитное излучение видимой области спектра (300–800 нм), поглощаемое фотосинтетическими пигментами.

Фотосинтетический коэффициент — отношение выделенного кислорода к объему поглощенного углекислого газа.

Фотосинтетическое фосфорилирование (фотофосфорилирование) — синтез АТФ за счет энергии света.

Фотосистема — интегральный полипептидный комплекс, включающий реакционный центр, светособирающую антенну и молекулы-переносчики электронов.

Холодоустойчивость — способность растений переносить действие низких положительных температур.

Чистая продуктивность фотосинтеза (ЧПФ) — количество граммов сухого вещества, накопленное в растении за сутки в пересчете на 1 м² листовой поверхности.

Энергетический выход фотосинтеза — отношение запасенной энергии к поглощенной.

Экономичность транспирации — количество воды, испаренное растением за единицу времени в процентах от общего запаса воды в растении.

Яровизация — физиологическая реакция растений на охлаждение, приводящая к инициации цветения и образования семян.

3. ПРИГОТОВЛЕНИЕ БУФЕРНЫХ РАСТВОРОВ

Ацетатный буфер 0,2 М, pH 3,6–5,8
(ацетат натрия $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Mr 136,09)

pH при 18 °С	Ацетат натрия 0,2 М, мл	Уксусная кислота 0,2 М, мл	pH при 18 °С	Ацетат натрия 0,2 М, мл	Уксусная кислота 0,2 М, мл
3,6	0,75	9,25	4,8	5,90	4,10
3,8	1,20	8,80	5,0	7,00	3,00
4,0	1,80	8,20	5,2	7,90	2,10
4,2	2,65	7,35	5,4	8,60	1,40
4,4	3,70	6,30	5,6	9,10	0,90
4,6	4,90	5,10	5,8	9,40	0,60

Цитратный буфер 0,1 М, pH 3,0–6,2
(лимонная кислота $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$; Mr 210,14;
трехзамещенный цитрат натрия $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Mr 294,12)

pH	Лимонная кислота 0,1 М, мл	Трехзамещенный цитрат натрия 0,1 М, мл	pH	Лимонная кислота 0,1 М, мл	Трехзамещенный цитрат натрия 0,1 М, мл
3,0	16,4	3,6	4,8	8,0	12,0
3,2	15,5	4,5	5,0	7,0	13,0
3,4	14,6	5,4	5,2	6,1	13,9
3,6	13,7	6,3	5,4	5,1	14,9
3,8	12,7	7,3	5,6	4,2	15,8
4,0	11,8	8,2	5,8	3,2	16,8
4,2	10,8	9,2	6,0	2,3	17,7
4,4	9,9	10,1	6,2	1,6	18,4
4,6	8,9	11,1	—	—	—

Трис-НСl буфер 0,05 М, pH 7,2–9,1
(трис, Mr 121,14)

pH при 23 °С	Трис 0,2 М, мл	Соляная кислота 0,1 М, мл	Вода, мл	pH при 23 °С	Трис 0,2 М, мл	Соляная кислота 0,1 М, мл	Вода, мл
9,10	25	5,0	до 100	8,05	25	27,5	до 100
8,92	25	7,5	до 100	7,96	25	30,0	до 100
8,74	25	10,0	до 100	7,87	25	32,5	до 100

рН при 23 °С	Трис 0,2 М, мл	Соляная кислота 0,1 М, мл	Вода, мл	рН при 23 °С	Трис 0,2 М, мл	Соляная кислота 0,1 М, мл	Вода, мл
8,62	25	12,5	до 100	7,77	25	35,0	до 100
8,50	25	15,0	до 100	7,66	25	37,5	до 100
8,40	25	17,5	до 100	7,54	25	40,0	до 100
8,32	25	20,0	до 100	7,36	25	42,5	до 100
8,23	25	22,5	до 100	7,20	25	45,0	—
8,14	25	25,0	до 100	—	—	—	—

Фосфатный буфер 0,1 М, рН 5,8–8,0
($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Mr 178,05; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, Mr 358,22;
 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Mr 138,0; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Mr 156,03)

рН	Na_2HPO_4 0,2 М, мл	NaH_2PO_4 0,2 М, мл	Вода, мл	рН	Na_2HPO_4 0,2 М, мл	NaH_2PO_4 0,2 М, мл	Вода, мл
5,8	8,0	92,0	до 200	7,0	61,0	39,0	до 200
6,0	12,3	87,7	до 200	7,2	72,0	28,0	до 200
6,2	18,5	81,5	до 200	7,4	81,0	19,0	до 200
6,4	26,5	73,5	до 200	7,6	87,0	13,0	до 200
6,6	37,5	62,5	до 200	7,8	91,5	8,5	до 200
6,8	49,0	51,0	до 200	8,0	94,7	5,3	до 200

Сукцинатный буфер 0,05 М, рН 3,8–6,0
(янтарная кислота $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$, Mr 118,09)

рН	Янтарная кислота 0,2 М, мл	Натриевая щелочь 0,2 М, мл	Вода, мл	рН	Янтарная кислота 0,2 М, мл	Натриевая щелочь 0,2 М, мл	Вода, мл
3,8	25	7,5	до 100	5,0	25	26,7	до 100
4,0	25	10,0	до 100	5,2	25	30,3	до 100
4,2	25	13,3	до 100	5,4	25	34,2	до 100
4,4	25	16,7	до 100	5,6	25	37,5	до 100
4,6	25	20,0	до 100	5,8	25	40,7	до 100
4,8	25	23,5	до 100	6,0	25	43,5	до 100

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	3
Глава 1. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ.....	5
1.1. Содержание и роль минеральных элементов в растении.....	8
<i>Лабораторная работа № 1. Микрохимический анализ золы.....</i>	<i>14</i>
<i>Лабораторная работа № 2. Обнаружение в золе макроэлементов.....</i>	<i>16</i>
<i>Лабораторная работа № 3. Определение содержания азота и фосфора в почве.....</i>	<i>18</i>
<i>Лабораторная работа № 4. Обнаружение нитратов в растениях.....</i>	<i>21</i>
1.2. Поступление элементов минерального питания в растение.....	23
<i>Лабораторная работа № 5. Поступление аммонийного азота в растительную клетку путем диффузии аммиака через плазматическую мембрану.....</i>	<i>32</i>
<i>Лабораторная работа № 6. Функционирование системы транспорта нитратного азота на плазматической мембране клеток корня.....</i>	<i>36</i>
<i>Лабораторная работа № 7. Измерение кинетики поглощения ионов калия корнями растений.....</i>	<i>38</i>
1.3. Культивирование растений на искусственных питательных средах.....	41
<i>Лабораторная работа № 8. Влияние макроэлементов на рост и развитие растений.....</i>	<i>43</i>
1.4. Вопросы и задания для самоконтроля к главе «Минеральное питание».....	45
Вопросы.....	45
Задачи.....	47
Тестовые задания.....	48
Глава 2. ФИЗИОЛОГИЯ СТРЕССА И АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ.....	51
2.1. Температурные воздействия.....	54
<i>Лабораторная работа № 9. Защитное действие сахарозы на цитоплазму при замораживании.....</i>	<i>56</i>
<i>Лабораторная работа № 10. Определение жароустойчивости растений.....</i>	<i>58</i>
2.2. Засоление.....	60

Лабораторная работа № 11. Влияние засоления на рост и поглощение воды растениями	61
2.3. Оксидативный стресс	63
Лабораторная работа № 12. Определение активности каталазы газометрическим методом	66
Лабораторная работа № 13. Определение активности пероксидазы	68
Лабораторная работа № 14. Стресс-индуцируемая запрограммированная клеточная гибель у растений	70
2.4. Вопросы и задания для самоконтроля к главе «Физиология стресса и адаптации растений»	72
Вопросы	72
Тестовые задания	74

Глава 3. ПРИМЕРЫ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ ПО КУРСУ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»	77
3.1. Физиология растительной клетки	77
3.2. Фотосинтез	80
3.3. Дыхание растений	81
3.4. Водный режим растений	82
3.5. Минеральное питание растений	85
ПРИЛОЖЕНИЕ	87
1. Учебная программа по курсу «Физиология растений»	87
2. Основные понятия и определения	94
3. Приготовление буферных растворов	100

Учебное издание

Юрин Владимир Михайлович
Демидчик Вадим Викторович
Филиппова Галина Григорьевна и др.

**МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ,
ФИЗИОЛОГИЯ СТРЕССА
И АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ**

Учебно-методическое пособие

Редактор *А. Г. Терехова*
Художник обложки *Т. Ю. Таран*
Технический редактор *Т. К. Раманович*
Компьютерная верстка *О. В. Гасюк*
Корректор *М. А. Харчевник*

Подписано в печать 19.05.2014. Формат 60×84/16. Бумага офсетная.
Ризография. Усл. печ. л. 6,04. Уч.-изд л. 7,07.
Тираж 120 экз. Заказ 271.

Белорусский государственный университет.
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/270 от 03.04.2014.

Пр. Независимости, 4, 220030, Минск.

Республиканское унитарное предприятие
«Издательский центр Белорусского государственного университета».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 2/63 от 19.03.2014.
Ул. Красноармейская, 6, 220030, Минск.