

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»
Институт естественных наук
Кафедра ботаники, зоологии и биоэкологии

Учебно-методическое пособие по дисциплине
ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ



Ижевск
2023

УДК 581.1 (075.8)
ББК 28.573я73
У912

Рекомендовано к изданию учебно-методическим советом УдГУ.

Рецензент: д-р с.-х. наук А.В. Федоров

Составитель : Зыкина Н.Г.

У912 Учебно-методическое пособие по дисциплине Экологическая физиология растений : [Электрон. ресурс] / сост. Н.Г. Зыкина. – Ижевск : Удмуртский университет, 2023. – 201 с.

Учебно-методическое пособие предназначено для проведения лабораторных занятий по дисциплине «Экологическая физиология растений» для студентов магистров по программе подготовки 06.04.01.02 «Биоэкология».

УДК 581.1 (075.8)
ББК 28.573я73

© Н.Г. Зыкина, сост., 2023
© ФГБОУ ВО «Удмуртский
государственный университет», 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
РАЗДЕЛ 1. АДАПТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РАСТЕНИЙ	7
1.1. Адаптация растений к неблагоприятным условиям	7
1.2. Концепции адаптации растений	17
1.2.1. Теория рефлекса.....	19
1.2.2. Концепция донорно-акцепторных отношений (ДАО)...	38
1.2.3. Концепция типов адаптивных стратегий.....	45
1.3. Лабораторные работы по разделу 1	51
1.3.1. Проницаемость искусственных и биологических мембран.....	53
1.3.2. Диагностика повреждения растительной ткани по увеличению ее проницаемости.....	60
1.3.3. Интенсивность фотосинтеза водного растения при изменениях условий внешней среды	63
1.3.4. Содержание хлорофилла в листьях растений разных ярусов фитоценоза, теневых и световых листьев одного растения	72
1.3.5. Обнаружение дубильных веществ в растениях.....	77
1.4. Вопросы коллоквиума 1	82
1.5. Список литературы по разделу 1	83
РАЗДЕЛ 2. ФАКТОРИАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ.....	86
2.1. Засухоустойчивость растений.....	98
2.1.1. Изменение осмотического давления растительной клетки при недостатке воды.....	105
2.1.2. Изменение интенсивности транспирации	119
2.2. Устойчивость растений к низким температурам	130
2.3. Устойчивость к недостатку кислорода	142
2.4. Жароустойчивость растений.....	147

2.5. Солеустойчивость растений.....	153
2.6. Газоустойчивость и радиоустойчивость.....	165
2.7. Устойчивость к патогенам (иммунитет).....	170
2.8. Вопросы коллоквиума 2	178
2.9. Список литературы по разделу 2.....	179
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Справочные материалы для подготовки и выполнения лабораторных работ	182
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Основные метаболические пути преобразования углерода в растении.....	193

ВВЕДЕНИЕ

Экологическая физиология растений – это наука о взаимодействии растений с окружающей средой, о физиолого-биохимических процессах, происходящих в ответ на изменение экологических условий, об устойчивости растений к действию различных стрессов.

Данное направление возникло на стыке двух наук: физиологии растений и экологии. В науке выделяются два основных подхода: в физиологическом основное внимание уделяется рассмотрению отдельных функций растительного организма (фотосинтеза, дыхания, водного обмена, минерального питания, роста и др.) на фоне изменяющихся экологических условий; в экологическом обсуждается действие различных факторов среды (света, температуры, газового состава и др.) на функциональные особенности растений.

Данное учебно-методическое пособие составлено для дисциплины «Экологическая физиология растений» по программе 06.04.01.02 «Биоэкология». По данной дисциплине отсутствуют учебные и методические пособия, что не позволяет полноценно организовать работу студентов.

В пособии выделено два раздела: Адаптивный потенциал растений и Факториальная экология растений. Здесь представлены как учебные материалы по теме, так и лабораторные работы, на которых студенты оттачивают навыки экспериментальных исследований по определению функционального состояния растений.

Большинство занятий запланировано на работу студентов в микрогруппах (2 чел), однако часть экспериментов предполагает работу всей подгруппы с последующим

обобщением результатов. Для лабораторной работы кратко дается теоретическое обоснование эксперимента, представлен план его выполнения, перечислены необходимые материалы и реактивы. Результаты исследования фиксируются в виде расчетов, таблиц, рисунков, графиков и выводов.

В процессе выполнения лабораторных исследований студенты получают важные навыки и умения экспериментальной работы, что позволяет обеспечить формирование компетенции ПК-4: способность генерировать новые идеи и методические решения.

В лабораторных работах приведены вопросы для контроля и самоконтроля студентов. В конце каждого раздела по изучаемому блоку материала проводится коллоквиум. Для подготовки к коллоквиумам приведены вопросы и список литературы, используемой для подготовки материалов раздела, где можно почерпнуть более подробную информацию по теме.

Выполнение экспериментальных работ по физиологии растений предполагает подготовку реактивов и растительного сырья, поэтому для каждого занятия приведен соответствующий список. В приложениях даны необходимые справочные материалы, рецепты приготовления необходимых растворов и методики подготовки растительных объектов.

РАЗДЕЛ 1. АДАПТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РАСТЕНИЙ

Способность к защите от действия неблагоприятных факторов среды – столь же обязательное свойство любого организма, как питание, движение, размножение и др. Эта функция появилась одновременно с возникновением первых живых организмов и в ходе дальнейшей эволюции развивалась и совершенствовалась. Поскольку повреждающих и уничтожающих факторов множество, возникшие способы защиты от них оказались самыми разными – от метаболических механизмов до анатомо-морфологических приспособлений. Выживаемость и изменение экологической ниши определялись способностью организмов приспосабливаться к необычным условиям среды.

1.1. Адаптация растений к неблагоприятным условиям

Адаптация, т. е. приспособление организма к конкретным условиям существования, у индивидуума достигается за счет физиолого-биохимических механизмов (физиологическая адаптация), а у популяции организмов (вида) – благодаря механизмам генетической изменчивости и наследственности (генетическая адаптация). Безотказность функционирования растительного организма в нормальных условиях существования и при отклонении от нормы можно определить как «надежность». Она определяет способность не допускать или ликвидировать нарушения обмена веществ на разных уровнях: молекулярном, субклеточном, клеточном, тканевом, органном, организменном и популяционном. Для поддержания нор-

мальной функциональной активности используются системы стабилизации: принцип избыточности, принцип гетерогенности равнозначных компонентов, механизмы гомеостаза. Для ликвидации возникших сбоев служат системы репарации (восстановления).

На каждом уровне биологической организации действуют свои механизмы. На молекулярном уровне принцип избыточности находит свое выражение, например, в полиплоидии, на организменном – в образовании большого количества гамет и семян. Примерами восстановительной активности на молекулярном уровне служит энзиматическая репарация поврежденной ДНК, на организменном – пробуждение спящих почек при повреждении апикальной меристемы, регенерация и т. д. [5, 8, 16, 17].

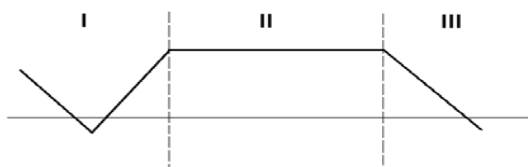
Стресс для растений

Надежность любого организма проявляется в эффективности его защитных приспособлений, в его устойчивости к действию неблагоприятных факторов внешней среды (высокой и низкой температуры, недостатка кислорода, дефицита воды, засоления и загазованности среды, ионизирующих излучений, инфекции и др.). Эти неблагоприятные факторы в последнее время часто называют стрессорами, а реакцию организма на любые отклонения от нормы – стрессом.

Канадский ученый Г. Селье со второй половины 30-х гг. ввел в медицину понятие «стресс» (от англ. *stress* – напряжение). Он определил, что, стресс – это совокупность всех неспецифических изменений, возникающих в организме животного под влиянием любых сильных воздействий (стрессоров), включающих перестройку защитных сил организма [8].

По Селье, стресс как реакция организма на неблагоприятное воздействие проходит три фазы (рис. 1). Если при сильных воздействиях последняя фаза наступает и развивается быстро, то организм погибает.

Перенос теории стресса в том виде, как это изложено выше, на растительные объекты не возможен: у растений нет ни нервной системы, ни тех гормонов, которые участвуют в стрессовых реакциях у животных. Для растений можно говорить о следующих трех фазах: 1) первичной стрессовой реакции, 2) адаптации, 3) истощения ресурсов надежности.



ТРИ ФАЗЫ СТРЕССА

Рис. 1. Три фазы стресса: I - тревоги, II - резистентности (адаптации) и III - истощения (по Селье).

Некоторые исследователи предлагают дополнить триаду Селье еще одной фазой – назвав ее фазой регенерации (реституции), наступление которой возможно после удаления стрессора. Однако данный этап не может быть повторением второй фазы, поскольку к этому времени организм оказывается слишком ослабленным [9].

В настоящее время понятие стресс перенесено в физиологию растений и существует направление – стресс-физиология растений. Наблюдаемый при стрессе комплекс метаболических перестроек у растений назван фитострессом [11, 17].

Экологический фактор в пределах нормы реакции определяет нормальное функционирование организма, он же за пределами нормы реакции вызывает стресс.

Характер ответных реакций растения на внешнее воздействие в сильной степени зависит от напряженности действующего фактора (интенсивности и продолжительности), генетически обусловленной устойчивости и физиологического состояния растения.

Растения различных эколого-географических групп могут по-разному реагировать на одни и те же условия. Иногда растение приобретает устойчивость одновременно к нескольким видам неблагоприятных воздействий. Например, предпосевное закаливание к засухе повышает жароустойчивость. Применительно к данному случаю используется понятие «сопряженная устойчивость».

Кроме того, существует понятие «конвергентная устойчивость», когда различные воздействия на растения приводят к одинаковому результату. Например, адаптация древесных растений к зимним условиям повышает их жароустойчивость, а у весенних эфемеров жароустойчивость повышается под влиянием пониженных положительных температур.

Устойчивость растения к стрессовому воздействию зависит и от фазы онтогенеза. Наиболее устойчивы растения, находящиеся в покоящемся состоянии (в виде семян, луковиц и т.п.). Наиболее чувствительны растения в молодом возрасте, в период появления всходов, так как в условиях стресса, прежде всего, повреждаются те звенья метаболизма, которые связаны с активным ростом. По мере роста и развития устойчивость растений к стрессовым воз-

действиям постепенно возрастает вплоть до созревания семян. Однако период формирования гамет также является критическим, поскольку растения в это время высокочувствительны к стрессу и реагируют на действие стрессоров снижением продуктивности [3, 5, 8].

Механизмы стресса на разных уровнях организации

На разных уровнях организации приспособление к экстремальным условиям осуществляется у растений неодинаково. Чем выше уровень биологической организации (клетка, организм, популяция), тем большее число механизмов одновременно участвует в адаптации растений к стрессовым воздействиям [8].

Клеточный уровень

На клеточном уровне стресс (адаптационный синдром) направлен на поддержание структурной целостности макромолекул, сохранение регуляторных систем, обеспечение организма энергетической валютой и предшественниками белков и нуклеиновых кислот. Общая схема изменения метаболизма клетки в ответ на воздействие стресса приведена на рис. 2. Эти процессы можно разделить на специфические и неспецифические.



Рис. 2. Изменение метаболизма клетки в ответ на воздействие стресса.

К *первичным неспецифическим* процессам, происходящим в клетках растений при сильном и быстро нарастающем действии стрессора, относятся следующие:

1. Повышение проницаемости мембран, деполяризация мембранного потенциала плазмалеммы.
2. Вход Ca^{2+} в цитоплазму (из клеточных стенок и внутриклеточных компартментов: вакуоли, эндоплазматической сети, митохондрий).
3. Сдвиг pH цитоплазмы в кислую сторону.
4. Активация сборки актиновых микрофиламентов и сетей цитоскелета, в результате чего возрастает вязкость и светорассеивание цитоплазмы.
5. Усиление поглощения O_2 , ускоренная трата АТФ, развитие свободнорадикальных реакций.
6. Возрастание гидролитических процессов.

7. Активация и синтез стрессовых белков.

8. Усиление активности H^+ -помпы в плазмалемме (и, возможно, в тонопласте), препятствующей неблагоприятным сдвигам ионного гомеостаза.

9. Увеличение синтеза этилена и АБК, торможение деления и роста, поглотительной активности клеток и других физиологических и метаболических процессов, осуществляющихся в обычных условиях. Торможение функциональной активности клеток происходит в результате действия ингибиторов и переключения энергетических ресурсов на преодоление неблагоприятных сдвигов [9].

Перечисленные стрессовые реакции наблюдаются при действии любых стрессоров. Они направлены на защиту внутриклеточных структур и устранение неблагоприятных изменений в клетках. Все эти явления адаптационного синдрома (стресса) взаимосвязаны и развиваются как каскадные процессы.

Наряду с неспецифическим эффектом все стрессоры оказывают и *специфическое воздействие* на клетки и ткани. Особый интерес вызывают данные об активации в клетках в условиях стресса синтеза так называемых стрессовых белков с одновременным ослаблением синтеза белков, образующихся в нормальных условиях.

Так, у многих растений выявлены белки теплового шока. Например, у кукурузы синтез этих белков индуцируется температурой $45^{\circ}C$. Гены температурного шока лишены интронов, мРНК имеет полупериод жизни 2 ч, а белки – около 20 ч, в течение которого клетка сохраняет терморезистентность.

Кроме синтеза шоковых белков (что доказывает наличие в геноме растений специальной программы, связанная с переживанием стресса), при неблагоприятных обстоятельствах в клетках возрастает содержание углеводов, пролина, которые участвуют в защитных реакциях, стабилизируя цитоплазму.

Неспецифический характер некоторых реакций клеток растений на стресс позволяет мобилизовать резервные возможности организма для общего быстрого ответа на действие неблагоприятных факторов окружающей среды. В невысоких дозах повторяющиеся стрессы способствуют закаливанию организма, причем во многих случаях установлено, что закаливание по отношению к одному стрессорному фактору способствует повышению устойчивости организма и к некоторым другим.

Для оценки устойчивости растений к неблагоприятным факторам на клеточном и органном уровне используются разные физиолого-биохимические признаки: проницаемость мембран, водно-осмотические показатели, образование протекторов, ростовая активность и др.) [3, 5, 8, 11, 17].

Организменный уровень

На организменном уровне сохраняются все механизмы адаптации, свойственные клетке, а также подключаются новые, отражающие взаимодействие органов в целом растении.

Прежде всего, это конкурентные отношения между органами за физиологически активные вещества и трофические факторы. Эти отношения построены на силе аттрагирующего (притягивающего) действия. Подобный механизм позволяет растениям в экстремальных условиях

сформировать лишь такой минимум генеративных органов (аттрагирующих центров), которые они в состоянии обеспечить необходимыми веществами для нормального созревания. Например, при неблагоприятных условиях в колосе злака формируются не все семена, а лишь немногие, но оставшиеся достигают обычных размеров. Точно так же у плодовых деревьев в результате конкуренции за питательные вещества между плодами часть из них опадает (чем хуже условия существования растения, тем меньше плодов остается).

При неблагоприятных условиях резко ускоряются процессы старения и опадения нижних листьев, причем продукты их распада используются для питания более молодых органов.

Важнейший и типичный для растений механизм защиты – процесс замены поврежденных или утраченных органов другими путем регенерации и роста пазушных почек.

На организменном уровне важны межклеточные системы регуляции (гормональная, трофическая и электрофизиологическая).

При неблагоприятных условиях существования в растениях резко возрастает выработка ингибиторов: этилена и абсцизовой кислоты (АБК), снижающих обмен веществ, тормозящих ростовые процессы, способствующих старению и опадению органов, переходу растительного организма в состояние покоя. Одновременно в тканях снижается содержание ауксина, цитокинина и гибберелинов. Наблюдается явное соответствие этих процессов теории стресса, предложенной Селье для животных, с той только разницей, что у растений в условиях стресса ведущую роль

играют фитогормоны, тормозящие их функциональную активность.

Для оценки устойчивости растений к неблагоприятным факторам на организменном уровне можно использовать донорно-акцепторные взаимосвязи [17].

Популяционный уровень

Адаптация на популяционном уровне происходит в условиях длительного и сильного стресса. В данных условиях гибнут те индивидуумы, у которых генетически норма реакции на действующий экстремальный фактор меньше соответствует его колебаниям. Эти растения гибнут, а формируемое популяцией потомство представлено генетически более устойчивыми растениями. В результате общий уровень устойчивости в популяции возрастает. Таким образом, на популяционном уровне в стрессовую реакцию включается дополнительный фактор – отбор, приводящий к преобладанию более приспособленных организмов. Предпосылкой к этому механизму служит внутрипопуляционная вариабельность уровня устойчивости к тому или иному фактору или группе факторов. Для оценки устойчивости растений к неблагоприятным факторам на популяционном уровне можно использовать анализ на выживаемость после стресса (проращивание семян при давлении стресса) [3, 5, 8, 17, 19].

1.2. Концепции адаптации растений

В условиях колебаний показателей окружающей среды, в любом живом организме должны функционировать системы, позволяющие согласованно изменять физиологические процессы. Эти процессы идут как на уровне одной клетки, так и на уровне всего организма (рис. 3).



Рис. 3. Системы регуляции у растений (по Чирковой, 2002).

Для координации функциональной активности клетки в нормальных и неблагоприятных условиях среды необходим аппарат регуляции, включающий тесно связанные между собой генетическую, метаболическую (ферментную) и мембранную системы. Эти системы тесно связаны между собой.

На уровне организма согласование между клетками происходит за счет электро-физиологической, гормональной и трофической системами. Подавляющая часть клеточных механизмов устойчивости сформировалась на ранних этапах эволюции, поэтому регуляторные системы у высших растений и животных имеют общую основу.

При этом существуют значительные отличия систем управления растений и животных, основные отличия которых приведены в табл. 1 [16, 19]. При выборе разных путей достижения адаптации к окружающей среде у растений и животных, они успешно достигают необходимого результата.

Таблица 1

Наиболее значимые отличия в системах управления растений и животных

Растения	Животные
<ul style="list-style-type: none"> – Координация путем прямого взаимодействия потребляющих и производящих структур – Передача по незащищенным от воздействия каналам - ксилеме и флоэме – Объем информации мал и передача медленная (1 см/сек) – Малое (5 классических) число гормонов – Параллельное взаимодействие элементов в системе (децентрализованное), поэтому надежность зависит от числа дублирующих элементов – Система управления из большего числа низкокачественных элементов – Низкая цена передачи информации 	<ul style="list-style-type: none"> – Обработка данных в центральной диспетчерской (мозг) – Быстрая (100 м/сек) передача по множеству изолированных путей – Большое число высокоспецифичных гормонов – Взаимодействие элементов в системе – последовательное (централизованное), поэтому надежность всей системы зависит от самого слабого звена – Система управления стремится сделать каждое звено максимально качественным – Высокая цена передачи информации (ЦНС тратит до 20 % энергии от всего энергообмена)

Для объяснения механизмов адаптации растений был сформулирован ряд концепций [16]:

I. Теория рефлекса.

II. Концепция донорно-акцепторных отношений.

III. Концепция типов адаптивных стратегий.

1.2.1. Теория рефлекса

Согласно теории рефлекса, для адаптации к условиям среды в растении должно пройти 3 этапа:

1. Восприятие сигнала внешней среды (рецепция);
2. Трансформация сигнала в удобную для передачи форму (трансдукция);
3. Формирование адекватной реакции на воздействие.

1. Рецепция растений

Для успешного ответа на действие неблагоприятных факторов, растение должно фиксировать изменения внешней среды.

Рецепторы растений – молекулы или молекулярные комплексы, воспринимающие внешние или внутренние сигналы физической, механической, химической, электрохимической, осмотической или иной природы, трансформирующие эти сигналы и передающие их структуре, обеспечивающей ей формирование реакций и расположенной в той же или иной клетке. Наиболее известными и изученными являются хеморецепторы, фоторецепторы, гравирецепторы, механорецепторы и рецепторы, осуществляющие рецепцию биологических объектов (распознавание носителей чужеродной генетической информации).

Эти структуры могут быть локализованы в разных частях воспринимающей клетки: на поверхности клетки,

с внутренней стороны мембраны, рецепторы связанные с аппаратом транскрипции, цитозольные системы и т. д. Для растений и животных на клеточном уровне они во многом сходны, но у растений нет специализированных анализаторов [11].

Хеморецепция

Хеморецепция – древнейшая из рецепторных систем. У растительной клетки может быть своеобразная мозаика рецепторным молекул. Так гликопротеиды на поверхности клеток могут распознавать чужеродные биологические объекты. На этом основано, например, распознавание пыльцы и реакции, связанные с защитой от патогенов.

Рецепция химических соединений у растений очень широка – от низкомолекулярных элементов минерального питания до фитогормонов. Специфичность рецепторных систем при этом может значительно отличаться.

Самые распространенные хеморецепторы воспринимают градиент химических веществ. Воспринимается реакция на ионы водорода и гидроксил-ионы, трофические факторы (минеральные соединения и органические вещества), у корней наблюдается рецепция кислорода и углекислого газа, а также восприятие градиента увлажненности.

Хеморецепторы воспринимают изменения как внешней, так и внутренней среды организма. В ряде случаев отличить рецептор от фермента бывает сложно, так как в простейшем варианте восприятие сигнала рецептором совмещено с системой реагирования. Так присутствие протонов запускает работу АТФ-азы, что ведет к изменению заряда на мембране и / или изменение кислотности среды.

На более высоком уровне рецептор и эффектор разнесены в пространстве, тогда появляются системы передачи (трансдукции) сигнала. Наиболее хорошо изучены рецепторы гормонов, которые отличаются высокой специфичностью. Для них известно строение и запускаемые ими реакции. При этом восприятие одного гормона может происходить в разных частях клетки (мембрана, ядро, цитоплазма и т.д.) и вызывать целый каскад реакций, приводящий к изменению экспрессии генов и синтезу сигналиндуцированных белков (СИБ на рис. 4).

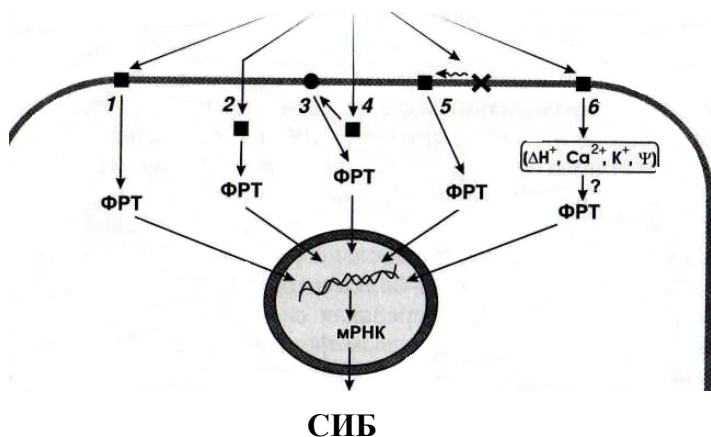


Рис. 4. Схема взаимодействия внешних сигналов с рецепторами клетки (по Тарчевскому, 2002).

1,5,6 – рецепторы, расположенные в плазмалемме; 2,4 – рецепторы, находящиеся в цитозоле; 3 – стартовый фермент сигнальной системы, локализованный в плазмалемме; 5 – рецептор, активирующийся под влиянием неспецифического изменения структуры липидной составляющей плазмалеммы; СИБ – сигналиндуцированные белки; ФРТ – белковые факторы регуляции транскрипции.

Аналогичные изменения происходят в ответ на выделяемые патогенами вещества. Их назвали элиситоры (от англ. *elicit* – выявлять, вызывать), это общее название для обозначения химических сигналов, возникающих в местах инфицирования растений патогенными микроорганизмами.

Элиситоры играют роль первичных сигналов и (после их рецепции) приводят в действие сложнейшую сеть процессов индукции и регуляции фитоиммунитета. Это проявляется в синтезе защитных белков, нелетучих антибиотиков - фитоалексинов, в выделении антипатогенных летучих соединений и др [11].

Фоторецепция

В настоящее время определены влияния различных участков спектра освещения на физиологические процессы в растениях (по Тихомирову и др., 2000):

- 280–320 nm – оказывает вредное воздействие;
- 320–400 nm – в малых количествах выполняет регуляторную роль;
- 400–500 nm – необходим для фотосинтеза и регуляции фотопериодической реакции; поглощается криптохромами и фототропинами;
- 500–600 nm – полезен для фотосинтеза оптически плотных листьев, листьев нижних ярусов, густых посевов растений благодаря высокой проникающей способности;
- 600–700 nm – ярко выраженное действие на фотосинтез, фотоморфогенез, развитие и регуляцию процессов; поглощается фитохромом P660;

- 700–750 nm – ярко выраженное регуляторное действие при содержании в несколько процентов общей интенсивности; поглощается фитохромом P730;
- 1200–1600 nm – поглощается внутри и межклеточной водой, увеличивает скорость тепловых биохимических реакций [14].

Фоторецепторы растений можно разделить на две группы:

а) **рецепторы-пигменты** (пигменты фотосинтеза), обеспечивающие восприятия света фотосистемами и включения энергии фотона в процессы фотосинтеза (рис. 5);

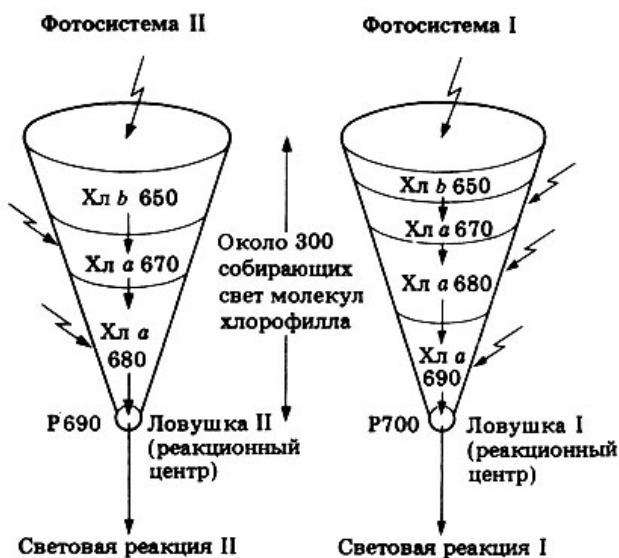


Рис. 5. Фоторецепторы фотосистем 1 и 2 (по Тейлору, 2019).

б) **фотоморфогенные рецепторы**, участвующие в трансформации светового сигнала в фотоморфологические реакции.

Рецепторы-пигменты представляют собой молекулы, селективно воспринимающие разные участки фотосинтетически активной радиации в диапазоне 350-800 нм. Данные вещества сосредоточены в хлоропластах. Спектры поглощения основных групп пигментов фотосинтеза представлены на рис. 6.

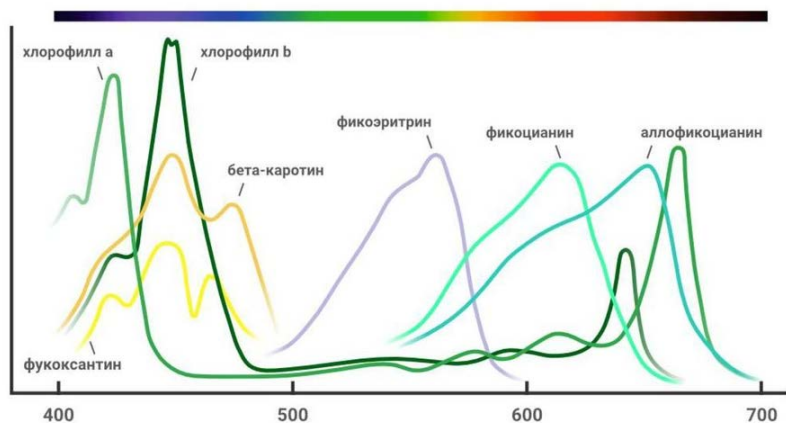


Рис. 6. Спектры поглощения основных рецепторов-пигментов фотосинтеза.

Разнообразие пигментов в растениях не ограничивается приведенными, их насчитывается несколько сотен, причем пигменты различаются по широте распространения в растительном мире (табл. 2). Одни присущи всем растениям, другие могут быть видоспецифичными или появляться при определенных экологических условиях.

Таблица 2

Пигменты растений

Организмы	Хлорофилл			Каротиноиды	Фикобилины
	a	b	c		
Семенные растения	+	+	–	+	–
Мхи, папоротники	+	+	–	+	–
Зеленые водоросли	+	+	–	+	–
Эвгленовые водоросли	+	+	–	+	–
Бурые водоросли	+	–	+	+	–
Красные водоросли	+	–	–	+	+

Фотоморфогенные рецепторы представляют собой фоточувствительные пигменты, определенным образом связанные с белками, что делает их схожими с хлорофиллами и каротиноидами. Однако, в отличие от последних, они расположены не в хлоропластах, а в ядрах и в цитоплазме клеток. Кроме того, они имеют более высокую чувствительность, но значительно меньший КПД и, соответственно, меньший энергетический выход [1].

К таким рецепторам относятся рецепторы красного (КС) и дальнего красного света (ДКС) – фитохромы; рецепторы, воспринимающие ультрафиолетовое излучение А-диапазона, синий (СС) и зеленый (ЗС) свет – криптохромы, фототропины, белки семейства ZEITLUPE; а также рецептор ультрафиолетового излучения В-диапазона (УФ-В) – белок UVR8 [1, 14].

На сегодня наиболее хорошо изучено, как растения реагируют на длины волн света в синей, красной и дальней красной областях спектра под действием фотосенсорных систем:

1. Фитохром (ФХ);
2. Криптохром (КХ);
3. Фототропин (ФТ).

За счет данных рецепторных систем растение фиксирует изменения в качестве света и запускает цепочку изменений, общая схема которых представлена на рис. 7.

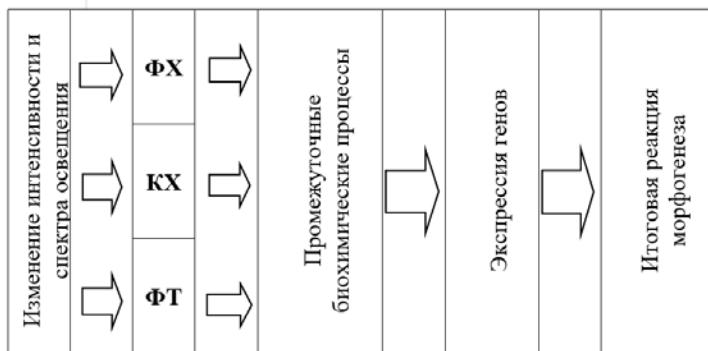


Рис. 7. Общая схема фотоморфогенеза (по Войцеховской, 2019).

1. **Фитохром** является белковым соединением, в которое встроен фоточувствительный пигмент фитохромобилин, при этом, в зависимости от вида этого белкового соединения, различают несколько модификаций фитохрома – А, В, С, D и Е. Эти модификации отличаются спектральными характеристиками и чувствительностью.

Для фитохрома выявлено две взаимобратимых формы, поглощающие красный свет (КС) и дальний красный свет (ДКС) (рис. 8). У неактивной формы фитохрома (Фкр) максимум поглощения хромофора приходится на красную область спектра (660 нм). После облучения Фкр переходит в активную форму (Фдкр), у которой появляется второй максимум поглощения хромофора в области ДКС (730 нм).

Освещение ДКС способствует переходу Фдкр обратно в Фкр. Реверсия Фдкр в Фкр также осуществляется и в темноте в результате постепенной терморелаксации фитохромобилина.

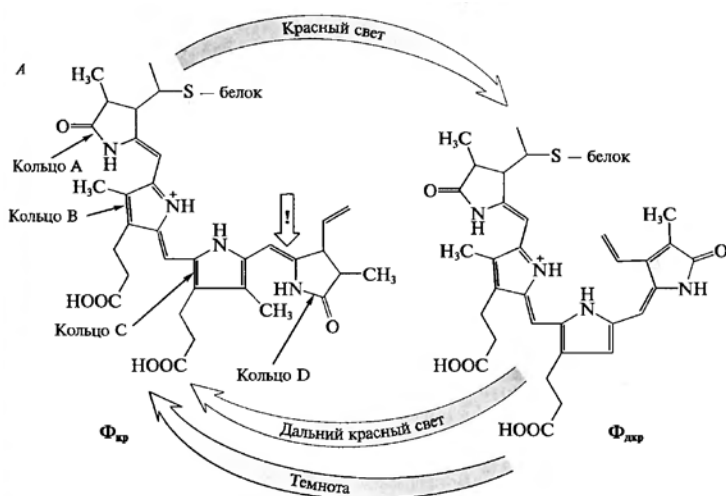


Рис. 8. Структура хромофорной группировки и ее изменение при фотоконверсии форм фитохрома.

На уровне клетки фитохром регулирует некоторые быстрые процессы: движение устьиц, хлоропластов, настии, уровень мембранного электрического потенциала и проницаемость мембран и более медленные: синтез пигментов – хлорофиллов и каротиноидов, синтез *de novo* ферментов и гормонов (гибберелины, цитокинины и, возможно, ауксины).

Фитохром был открыт при изучении прорастания набухших семян салата. Было обнаружено, что замоченные в полной темноте семена при дальнейшем отсутствии све-

та не прорастают, но начинают прорастать после кратковременного облучения светом с длиной волны около 660 нм. Также было установлено, что облучение семян светом с длиной волны около 730 нм останавливает процесс прорастания.

Кроме прорастания набухших семян, фитохром стимулирует процессы деэтиоляции. Так если семечко прорастает в слое почвы (полное отсутствие света), росток этиолирован, то есть имеет желтый цвет из-за отсутствия хлорофилла и ряд других признаков (табл. 3), обеспечивающих быстрый выход растения на поверхность. Как только росток пробивается наружу и улавливает красный свет, происходит фотоморфогенез и деэтиоляция.

Фитохромы обеспечивают и более сложные реакции растений на освещение, например, «синдром избегания тени». Если растение затеняется другими, то за счет светопропускания листьев в тени красный свет обогащается дальним красным высокой интенсивности. В этой ситуации работают два фитохрома – А и В. Они определяют, что свет для фотосинтеза есть, но его недостаточно. В итоге для выхода из тени включается режим «конкурентного» роста – нечто среднее между нормальным ростом и режимом этиоляции (табл. 3).

Рост стебля в междоузлиях при этом ускоряется, синтез хлорофилла притормаживается, а листья в тени образуются меньшего размера. Процесс продолжается до тех пор, пока не будет зафиксировано нормальное соотношение уровней красного и дальнего красного света.

Ряд растений полагается на световые сигналы, чтобы определить, когда перейти от вегетативной стадии разви-

тия к фазе цветения. Этот тип фотоморфогенеза называется фотопериодизм и включает использование красных фоторецепторов (фитохромов) для определения продолжительности светового дня. Первые роли здесь отводятся фитохромам, однако накапливается все больше данных о вкладе криптохромов в этот процесс.

Таблица 3

Отличия в развитии проростка в темноте и на свету

Этилированные ростки	Деэтилированные ростки
Нет роста листьев	Стимулируется рост листьев
Нет хлорофилл	Вырабатывается хлорофилл
Быстрое удлинение стебля	Подавление удлинения стебля
Ограниченное радиальное расширение стебля	Радиальное расширение стебля
Ограниченное удлинение корня	Содействие удлинению корня
Ограниченное производство боковые корни	Ускорение развития бокового корня

2. **Криптохромы** – группа фоточувствительных веществ, в которую входят специфические производные флавинов и каротиноиды (рибофлавин и β -каротин). Криптохромы изначально возникли в эволюции как ФАД-зависимые ДНК-фотолиазы, то есть ферменты, репарирующие вызванные синим светом (СС) разрывы в ДНК. Эта функция до сих пор сохранилась у некоторых криптохромов наземных растений.

Поглотив квант СС, флаavin криптохрома, находящийся в стабильной частично восстановленной форме, возбуждается и легко отдает электроны, изменяя редокс-потенциал

и конформацию рецептора. Это обуславливает фосфорилирование криптохрома с помощью фитохрома. Это включает механизмы трансдукции светового сигнала и физиологические ответы.

Таким образом, СС через фоторецепторы влияет на ионные потоки и величину мембранного потенциала, вызывает фототаксисы, перегруппировку хлоропластов, а также биосинтез хлорофиллов, каротиноидов и антоцианов.

На уровне целого растения криптохром может влиять на транспирацию, в том числе и раскрытие устьиц, сдвиги циркадных ритмов, различные фотоморфогенетические изменения: положительные и отрицательные ростовые изгибы; торможение или стимуляцию роста корней.

Было показано, что криптохромы в условиях естественного затенения являются сенсорами соотношения синего и зеленого света (ЗС). Оказалось, что “синдром избегания тени” может вызываться не только снижением соотношения КС/ДКС, но и повышением доли ЗС в падающем спектре; запуск данной реакции контролируется через криптохромы. Доказано также, что именно комбинация фитохромов и криптохромов опосредует рост и цветение растений (фотопериодизм) в ответ на красный свет и синий свет [1, 14].

3. **Фототропины** представляют собой протеинкиназы (участвуют в каскаде фосфорилирования), активируемые светом. Они, как правило, локализируются у плазмалеммы, но не являются интегральными мембранными белками; они также могут ассоциироваться с внешней мембраной хлоропластов. После кратковременного освещения фототропин на освещенной стороне фосфорилируется

больше, чем на теневой. Это ведет к быстрому первичному изгибу.

Неполный список функций, регулируемых фототропинами у растений, включает: фототропизм побега, корня и листьев, перемещение хлоропластов в ответ на световые и температурные сигналы, регуляцию движений устьиц.

Фитохромы и фототропины представляют собой терморцепторы растений, которые функционируют в разных световых условиях и в разных временных диапазонах (время жизни активной формы фоторецептора для фитохромов составляет десятки минут, а для фототропинов – десятки секунд). Совместно с фитохромом фототропин участвует в процессах синхронизации суточных ритмов [1, 3].

Помимо перечисленных систем у растений есть и другие фоторецепторы. Так у растений имеются рецепторы, способные специфично распознавать фотоны УФ-В, хотя их доля в солнечном спектре менее 1%. Белки семейства ZEITLUPE, активируемые синим светом, контролируют суточные циркадные ритмы и переход к цветению. Таким образом, список фотоморфогенных рецепторов растений не ограничивается перечисленными системами.

Кроме этого, перечисленные рецепторы взаимодействуют друг с другом и с гормональными системами для обеспечения максимальной адаптации организма к изменяющимся условиям. Зачастую они используют для передачи сигнала общие клеточные механизмы [1, 11].

2. Система передачи молекулярного сигнала (трансдукции) и формирование адекватной реакции

Информация о многих из перечисленных выше изменений окружающей среды в клетке передаются относительно небольшим числом неспецифических сигнальных систем.

Универсальность структуры основных носителей информации клеток различных организмов – ДНК и генов – предопределяет унификацию и тех механизмов, которые обслуживают реализацию этой информации. Это касается репликации ДНК и транскрипции, структуры и механизма действия рибосом, а также механизмов регуляции экспрессии генов изменяющимися условиями существования клеток с помощью набора в значительной степени универсальных сигнальных систем [11].

Одним из основных вариантов трансдукции различных сигналов в растительной клетке является фосфорелирование белков с участием протеинкиназ. В качестве примера на рис. 9 приведена схема передачи сигнала в случае нападения на растительную клетку патогена. В ответ на разрушение клеточной стенки, которое рецептирует стартовый фермент сигнальной системы, за счет протеинкиназ изменяется набор факторов регуляции транскрипции (ФРТ) и происходит синтез сигналиндуцированных белков (СИБ), который ведет к изменению метаболизма. Таким образом сигнал от рецептора передается на эффекторы.

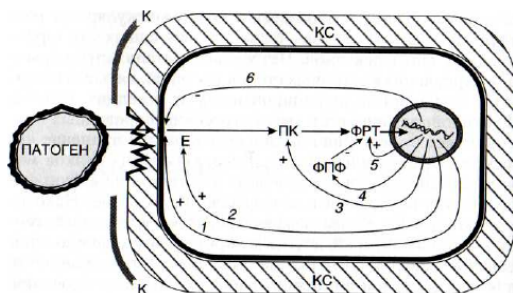


Рис. 9. Схема патогениндуцируемого образования интермедиаторов сигнальных систем (по Тарчевскому, 2002): Е – стартовый фермент сигнальной системы, К – кутикула, КС – клеточная стенка.

1 – рецепторный белок, стартовый фермент сигнальной системы, 3 – протеинкиназы (ПК), 4 – фосфопротеинфосфотазы (ФПФ), 5 – факторы регуляции транскрипции (ФРТ), 6 – протеиназы разрушающие рецептор.
(+) – активация, (-) – ингибирование сигнальных систем.

Возможна передача сигнала с участием фитогормонов. Достаточно хорошо изучены гормон-связывающие белки, которые могут быть локализованы как на мембране, так и внутри клетки, в ядре и цитоплазме. Соединяясь с гормоном, эти гормон-связывающие белки активизируются и в активной форме могут прямо влиять на различные геномные, мембранные и ферментативные эффекторы.

Кроме того, гормон-связывающие белки могут действовать опосредованно через вторичные мессенджеры. Последние могут быть как простыми химическими элементами (Ca^{2+}), так и высокомолекулярными веществами, относящимися к разным группам (рис. 10).

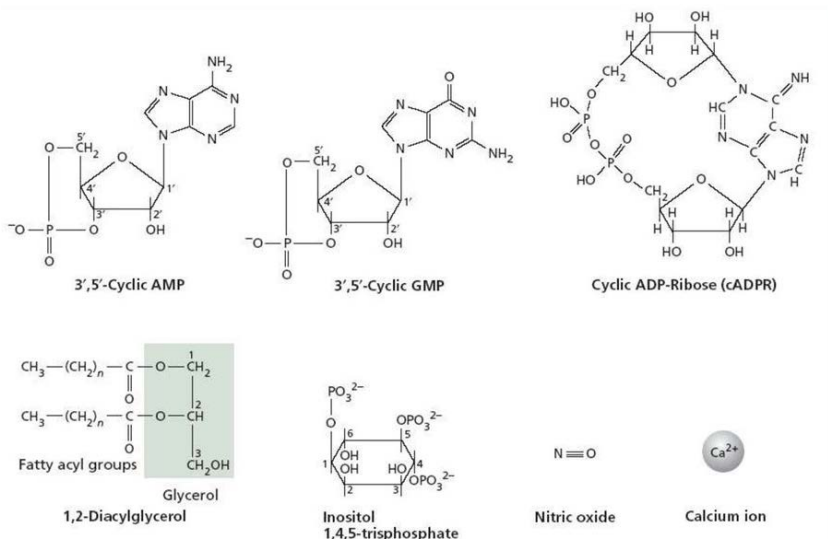


Рис. 10. Вторичные мессенджеры этапа трансдукции в растительной клетке.

Таким образом, в ответ на раздражение рецепторов происходит активация многочисленных сигнальных систем растений. Совокупность сигнальных систем растений и их прямое или опосредованное (через вторичные мессенджеры) влияние на процессы транскрипции представлено на рис. 11. Рецепция различных элиситеров и трансдукция сигнала приводит к изменению активности ряда генов и метаболизма клетки в ответ на стрессовое воздействие. Масштабы изменений могут варьировать, вплоть до реакции сверхчувствительности, когда за счет намеренной гибели инфицированных патогеном растительных клеток, обеспечивается выживание растения в целом.

Необходимо отметить взаимодействие разных сигнальных систем на уровне факторов регуляции транскрип-

ции (ФРТ), имеющих много мест фосфорилирования. Они могут обслуживаться протеинкиназами, активируемыми разными сигнальными системами. К настоящему времени накопилось немало фактов, свидетельствующих о возможности модулирования (активации или ингибирования) одних сигнальных систем с помощью промежуточных продуктов (вторичных посредников) других. Более подробно с передачей сигналов в клетках можно познакомиться у И. А. Тарчевского (2002).

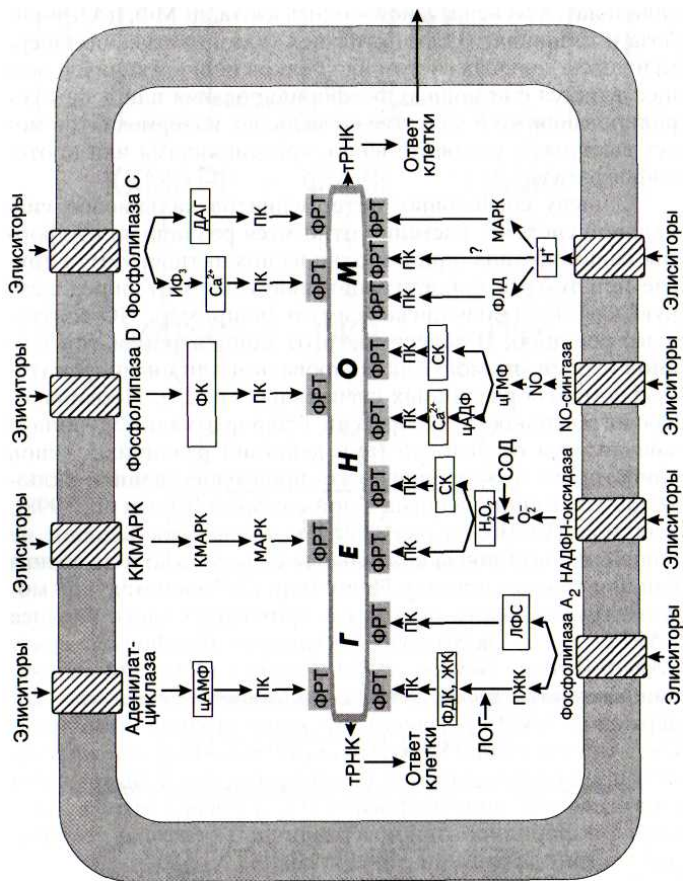


Рис. 1.1. Совокупность сигнальных систем клеток растений (по Тарчевскому, 2002).

Пояснения по рис. 11:

ДАГ - диацилглицерол;

ЖК - жасмоновая кислота;

ИФ3 - инози-толтрифосфат;

ККМАРК - киназа киназы МАР-киназы;

КМАРК — киназа МАР-киназы;

ЛОГ - липоксигеназа;

ЛФС — лизофосфатиды;

МАРК — митагенактивируемая протеинкиназа;

ПЖК — полиеновые жирные кислоты;

ПК - протеинкиназы;

СК - салициловая кислота;

СОД - супероксиддисмутаза;

ФДК - фитодиеновая кислота;

ФК - фос-фатидная кислота;

ФЛД - фосфолипаза Д;

ФРТ - факторы регуляции транскрипции;

цАДФР - циклическая АДФ-рибоза;

цАМФ - циклический аденозинмонофосфат;

цГМФ — циклический гуанозинмонофосфат 38

1.2.2. Концепция донорно-акцепторных отношений (ДАО)

Классические представления о донорно-акцепторной системе (ДАС) растений сложились в прошлом столетии. Это система отношений между производящими и потребляющими органами на разных уровнях структурной иерархии процессов [2, 4, 6, 7, 15, 16]. Для рассмотрения данных процессов важно вспомнить основные метаболические пути преобразования углерода в растении, общие схемы которых приведены в прил. 2.

Донорно-акцепторные системы (ДАС) состоят из отдельных донорно-акцепторных единиц (ДАЕ). Элементами ДАЕ являются:

- Донор ассимилятов
- Акцептор ассимилятов
- Аттрагирующий фактор (определяет поток к акцептору)
- Система транспорта
- Сигналы обратной связи (метаболиты, гормоны, электрические, осмотические и т.д.)
- Механизмы регуляции у донора по данным обратной связи
- Промежуточные фонды (пулы) ассимилятов
- Фактор старения, контролирующий развитие и старение донорного листа

Базовыми взаимодействующими структурами ДАС в целом растении являются корень и побег. Наиболее характерной функцией корня является поглощение элементов минерального питания и воды. Наряду с этим корень является местом синтеза ряда гормонов (АБК, цитокининов) и других метаболитов. Тем самым корневая система

растения является донором важнейших для функционирования побега веществ [6].

Основная функция побега заключается в преобразовании солнечной энергии в химическую в процессе ассимиляции CO_2 и распределении ее по всему растению, в том числе в корни. Взаимообмен веществом и энергией данных частей растения осуществляется посредством флоэмной и ксилемной транспортных систем, с помощью которых происходит перераспределение веществ от места их образования (донора) к месту потребления (акцептору).

Одни и те же части растения, например, листья, могут одновременно образовывать и использовать ассимиляты, а корни и другие органы – импортировать и экспортировать продукты фотосинтеза. Таким образом, растение является системой доноров и акцепторов, взаимодействие которых осуществляется благодаря канализированным системам транспорта веществ и передачи сигналов.

В процессе реализации морфогенетической программы роста и развития в растении возникают все новые донорные листья и сменяют друг друга акцепторы. Таким образом, в ходе роста растений происходит закономерная смена аттрагирующих (притягивающих) центров, где ассимиляты интенсивно используются в ростовых процессах или запасаются. В определенные периоды между отдельными потребляющими органами возникает конкуренция за получение ассимилятов, что свидетельствует о гибкости донорно-акцепторных взаимосвязей.

Так, например, у молодых растений картофеля доминирующими акцепторами являются апикальные меристемы и молодые листья, а донором углерода – высаженный

клубень. В ходе формирования листьев они становятся донорами углерода, а акцепторами становятся на первом этапе стебли, и только после – формируемые клубни. Общая схема превращения фотосинтетического углерода в растениях представлена на рис. 12. Важнейшая роль в данных процессах отводится дыханию, которое координирует процессы.

Количество углерода, расходуемого ассимилирующим органом на свои процессы дыхания может варьировать. В итоге величина оттока ассимилятов из листьев определяется: собственным возрастом листа, его положением на стебле и этапом онтогенеза растения, а также условиями среды (температура, освещение, минеральное питание и т.д. В оптимальных условиях к акцептору перемещается от 29 до 55% первоначально ассимилированного углерода [2, 4, 15].

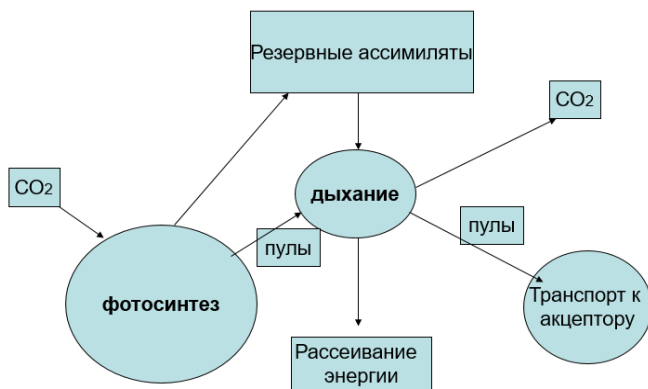


Рис. 12. Схема процесса превращения фотосинтетического углерода в растениях.

Эндогенная (внутриорганизменная) регуляция ДАС по А. Т. Мокроносову (1983) находится под контролем потребляющих ассимиляты органов. Если их ростовые процессы идут активно, то уменьшается фонд продуктов фотосинтеза в доноре и фотосинтетический канал расширяется, восполняя дефицит продуктов фотосинтеза. Наоборот, если по каким-либо причинам запрос снижается (например, опадение завязей или повреждение растущих плодов вредителями), то фотосинтез тормозится [6].

Однако возможны и другие варианты регуляции, например, формирование запроса на ассимиляты путем транспорта метаболитов, посылаемые аттрагирующими центрами к донору фотоассимилятов или запрос в производящие органы в виде биоэлектрических сигналов.

Транспорт ассимилятов в целом растении находится под генетическим контролем. В онтогенезе растения происходит последовательная, генетически обусловленная смена аттрагирующих центров, обеспечивающая синхронизацию синтеза ассимилятов и их потребления. Однако факторы внешней среды (свет, температура, влага, элементы минерального питания, физиологически активные вещества) оказывают существенное влияние на направленность распределения ассимилятов.

Создание временных фондов (пулов) ассимилятов способствует поддержанию сбалансированности ДАС. Система пулов ассимилянтов в донорных фотосинтезирующих тканях растений является фактором временной организации процессов. На рис. 13 отражено расположение метаболических, резервных и транспортных пулов в донорных фотосинтезирующих тканях.

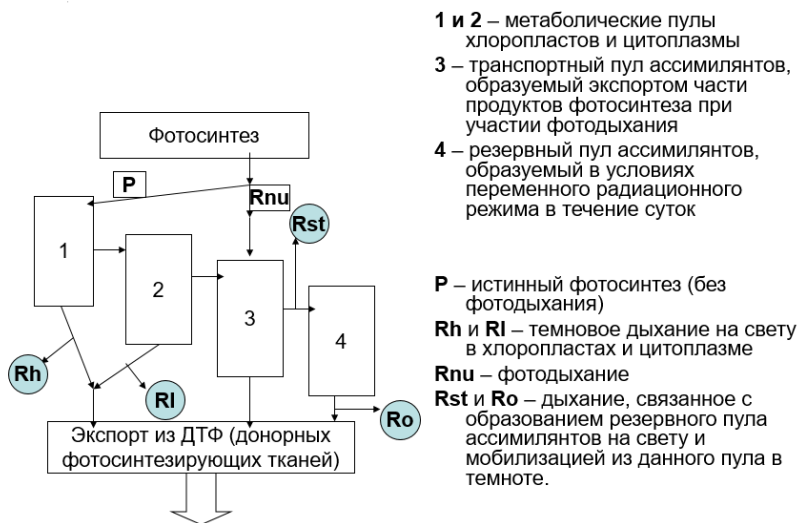


Рис. 13. Система пулов в фотосинтезирующих тканях (по Усманову и др, 2001).

Временные фонды способствуют стабилизации объема «запросов» на ассимилянты и предотвращают репрессию фотосинтеза из-за накопления крахмала в хлоропласте. Такие пулы обеспечивает возможность частичного разобщения и автономизации фотосинтеза и роста и развития.

Временное депонирование ассимилированного углерода может осуществляться в разных структурах, например, у картофеля растения таким местом являются стебли. В них может депонироваться до 67% продуктов текущего фотосинтеза.

Синтез экспортных веществ в донорных фотосинтезирующих тканях может обеспечиваться разными процессами. Это могут быть продукты, полученные как в результате темнового дыхания, так и в результате фотодыхания.

В зависимости от скорости фотосинтеза загрузка транспортного пула осуществляется по-разному (рис 14).

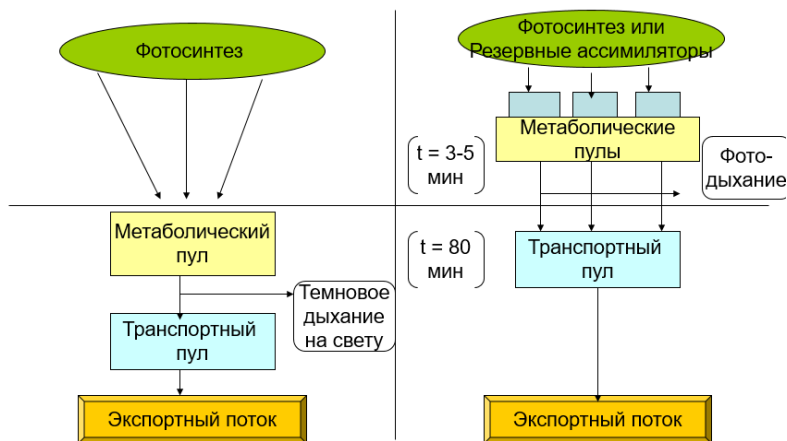


Рис. 14. Модель временной интеграции процессов превращения ассимилированного углерода в донорных фотосинтезирующих тканях (по Усманову и др, 2001)

Слева – низкая скорость фотосинтеза, справа – оптимальная и повышенная скорость фотосинтеза.

Таким образом, одну физиологическую функцию – синтез экспортных веществ и направление их к акцептору – могут выполнять разные процессы. При снижении скорости фотосинтеза фотоассимилянты в первую очередь будут превращаться в экспортные соединения за счет темнового модифицированного дыхания. При оптимальной и повышенной скорости фотосинтеза (при естественной концентрации кислорода и углекислого газа) быстрее синтезируются ассимилянты при участии фотодыхания. Важные коррективы в распределение продуктов ассимиля-

ции вносит окружающая среда. В норме и при стрессовом воздействии распределение ресурсов значительно отличается (рис. 15).

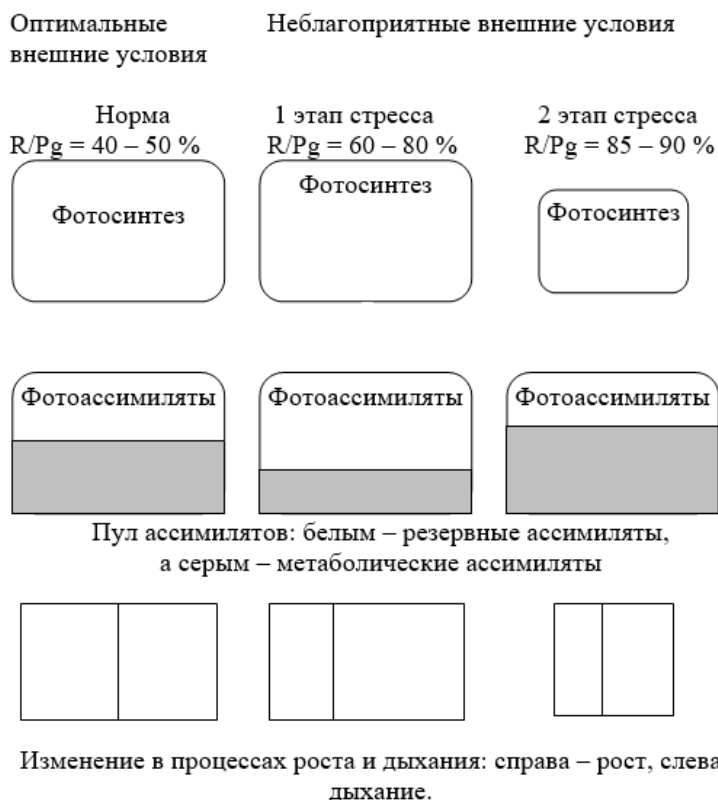


Рис. 15. Распределение пластических и энергетических ресурсов в донорных фотосинтезирующих тканях в норме и при стрессе (по Усманову и др, 2001).

При нормальных условиях резервный и метаболический пулы сопоставимы, отношение дыхания к фотосинтезу составляет 40 – 50%.

На первом этапе стресса у растений поддерживается исходный уровень фотосинтеза и растет объем резервного пула. При этом рост растения снижается, значительная часть ресурсов идет на дыхание – до 80%.

Во 2-й фазе стресса эти расходы составляют уже 85-90%, рост снижается еще больше, резервный пул сокращается, при этом тормозится и фотосинтез.

1.2.3. Концепция типов адаптивных стратегий

Эколого-ценотических группы растений выделяют по их отношению к комплексу эколого-фитоценотических условий, в которых они произрастают, а не отдельно к тому или иному экологическому фактору. Стратегию адаптации, реализуемую в каждом комплексе, стали называть *эколого-ценотическими стратегиями*. Еще в 1884 г., группы растений с r- и K-отбором описал ботаник Дж. Макклиод. Основные характеристики данных типов жизненных стратегий растений представлены на рис. 16. Он назвал их «пролетариями» (растения-малолетники, зимующие в виде семян) и «капиталисты» (растения, зимующие с капиталом органического вещества – клубнями, корневищами, толстыми стеблями и т. д.). Позднее представления об этих типах отбора подробно разработал Э. Пианка.

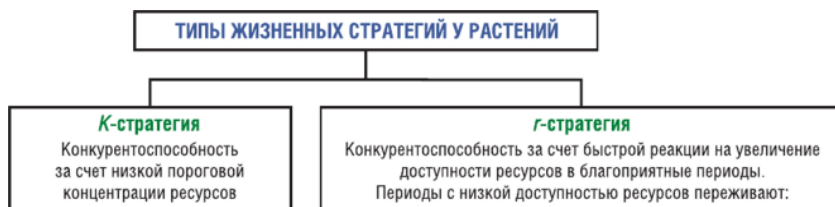


Рис. 16. Характеристики r- и K-стратегий растений.

При **г-стратегии** эволюция организмов идет в направлении увеличения затрат на размножение. Она характерна для сукцессионных экосистем.

К-стратегия – направлена на увеличения затрат на поддержание жизни взрослой особи. Это результат отбора в устойчивой эколого-фитоценотической среде, где основная часть энергии у растений расходуется на конкуренцию.

Эта одномерная система типов стратегий в геоботанике непопулярна, так как группа К-стратегов у растений оказывается слишком гетерогенной. Большее распространение получила двумерная система стратегий, отражающая не только влияние нарушений (как в системе г- и К-отбора), но еще и благоприятность условий (и соответственно биологическую продуктивность) [10].

Понятия об этих стратегиях впервые появилось в работах Л. Г. Раменского в 1935 г, который выделил 3 ценотипа растений: виолентов, пациентов и эксплерентов и дал им емкие образные эпитеты – «львы», «верблюды», «шакалы».

Впоследствии растения с разными стратегиями были выделены Дж. Граймом: конкуренты (С), стресс-толеранты (S) и рудералы (R). Оба автора отмечали, что группы не имеют четких границ, и есть промежуточные формы. Соотношение групп хорошо иллюстрирует треугольник эколого-фитоценотических стратегий (рис 17).

Основные типы «стратегических систем» растений (по Раменскому-Грайму):

Виоленты (С, конкуренты) – растения богатых и стабильных местообитаний, как правило, доминанты сообществ высокой биологической продуктивности. Это наиболее малочисленная и гомогенная группа растений.

Это конкурентно мощные растения, их реализованная и фундаментальная ниши практически полностью совпадают. Виоленты в равной степени неустойчивы как к ухудшению условий (просыхание почвы, засоление и т. д.), так и к нарушениям (рубка леса, высокие рекреационные нагрузки, пожары и т. д.). Под воздействием этих факторов виоленты, как правило, погибают.



Рис. 17. Треугольник эколого-фитоценологических стратегий Д. Грайма (конкуренты (C), стресс-толеранты (S), рудералы (R) и промежуточные типы стратегий – CR, CS, RS, CRS).

Пациенты (S, стресс-толеранты) – достаточно гетерогенная в морфологическом и ценологическом отношении группа видов. В ее составе есть растения как экстремальных местообитаний (пустынь, солончаков, тенистых расщелин скал, интенсивно используемых пастбищ), так и растения сомкнутых продуктивных сообществ, где на долю пациентов остается очень мало ресурсов,

так как основная их часть потребляется виолентами, например, растения напочвенного покрова лесов.

В любом случае пациенты устойчивы к стрессу благодаря специальным физиологическим механизмам. Их реализованные и фундаментальные ниши, как и у виолентов, тоже близки по объему, но в этом случае уже не по причине конкурентной мощности, а в результате тонкой специализации к произрастанию в настолько экстремальных условиях, что другие растения на них не претендуют.

Эксплеренты (R, рудералы) – как и виоленты, это растения богатых местообитаний, но произрастающие в условиях низкой конкуренции. Эти растения замещают виоленты при сильных нарушениях местообитаний или используют ресурсы в стабильных местообитаниях, но в период, когда они оказываются невостребованными. Большинство эксплерентов – однолетники или реже малолетники с высоким энергетическими расходами на размножение (репродуктивным усилием). Они способны формировать банк семян в почве или имеют приспособления для распространения плодов и семян.

Истинные эксплеренты – это сорные растения, которые первыми начинают восстанавливать растительность при нарушениях. К ложным эксплерентам относятся виды, которые постоянно присутствуют в фитоценозах в покоем состоянии и периодически дают вспышки численности (например, весенние эфемероиды в лесах, которые развиваются до распускания листвы на деревьях).

Эксплеренты одинаково неустойчивы как к абиотическому стрессу, так и к биотическому (влиянию конкурентов и фитофагов), и поэтому их реализованная ниша приближается к нулю. В то же время их фундаментальные

ниши очень широкие, и при отсутствии конкуренции эксплеренты могут занимать обширный спектр местообитаний, что особенно наглядно проявляется у синантропных видов с космополитными ареалами – полевых сорняков и растений пустырей.

Адаптивные стратегии растений генетически закрепляют отношения стимулирования и торможения между процессами роста и развития растения. Для каждого вида растения тип основной экологической стратегии генетически запрограммирован, но он может меняться в онтогенезе; при этом функциональные и морфологические параметры колеблются в пределах нормы реакции, отражая виолентность, пациентность и эксплерентность, проявляющиеся в соответствующих экологических условиях.

Все эти особенности отражаются на изменении физиологических показателей при неблагоприятных условиях окружающей среды. Так у растений с разными стратегиями существенно отличаются энергетические расходы в условиях стресса. Например, суммарное темновое дыхание в норме и при стрессе (дефиците элементов минерального питания) у рудералов (щирицы) значительно выше, чем у растений с другими стратегиями. Аналогичные зависимости отмечены для роста растений. Относительная скорость роста стресс-толеранта в разных условиях изменяется незначительно, тогда как рудералы в неблагоприятных условиях значительно снижают темпы роста [16].

Проявление виолентности, пациентности и эксплерентности меняется у растения не только в разных условиях, но и на разных возрастных стадиях развития (табл. 4). В еще большей степени различаются по характеру стратегии спорофиты и гаметофиты у плаунов, хвощей, папоротников [3].

Таблица 4

Возможные варианты смены стратегии в ходе онтогенеза растений (по Усманову и др, 2001)

Тип перехода	Ожидаемые эффекты		Вид, сорт, форма
	Ювенильная фаза	Генеративная фаза	
C → R	Накопление биомассы в условиях умеренного стресса;	Перекачка ресурсов в семена при любом уровне стресса	Однолетники, второй год у двулетников
C → S	в основном быстрорастущие виды	Остановка роста и формирование систем защиты онтогенеза	Озимые формы и поликарпические многолетники
S → R	Медленное накопление биомассы при	Перераспределение биомассы в семена	Монокарпические многолетники
S → C	сильном стрессе; медленно-растущие виды; растянутая ювенильная фаза	Накопление биомассы при умеренном перераспределении ресурсов в семена при слабом стрессе	Деревья, кустарники
R → C	Быстрый рост при отсутствии стресса; массовое прорастание	Сохранение быстрого роста при подавлении цветения	Деревья сериальных сообществ (ивы, клены)
R → S	семян у C-стратегов с резким усилением конкуренции	Быстрое начало цветения с быстрым переходом в состояние покоя	Эфемеры, эфемероиды

1.3. Лабораторные работы по разделу 1

Техника лабораторных работ, требования безопасности

В лаборатории должны быть средства пожаротушения и индивидуальной защиты (огнетушители, емкости с песком, защитные очки, респираторы, резиновые перчатки и др.), емкости из полиэтилена для слива ненужных, отработанных реактивов.

На видном месте должна находиться аптечка с набором медикаментов и препаратов, таких как мазь от ожогов, 3%-й раствор гидрокарбоната натрия (против кислотных ожогов), 1 %-й раствор уксусной кислоты (от щелочных ожогов), этиловый спирт, настойка йода, жгут, пластырь, перевязочные средства, вода, нашатырь.

Перед началом цикла работ в лаборатории студентам необходимо ознакомиться с правилами техники безопасности в лаборатории и расписаться в журнале инструктажа по технике безопасности.

Общие правила работы

1. Работать аккуратно, без спешки; соблюдать тишину. Желательно работать на одном и том же месте, иметь халат.

2. Не загромождать рабочее место портфелями, свертками, сумками и т. п. Для них отведены специальные места.

3. Курение, прием пищи (и ее хранение), употребление напитков в лаборатории запрещены.

4. Никакие вещества в лаборатории нельзя пробовать на вкус. Если необходимо определить запах газа или паров жидкости, хранящейся в банке или сосуде, нельзя подно-

сить их близко к лицу, следует легкими движениями руки направить воздух от горлышка или отверстия сосуда к носу.

5. Прежде чем приступить к работе по теме, необходимо тщательно ознакомиться с ее описанием.

6. Без указания и разрешения преподавателя не производить никаких дополнительных опытов.

7. Не брать приборы, аппараты, реактивы общего пользования на свое рабочее место.

8. Пользоваться можно только маркированными реактивами. Расходовать реактивы следует экономно.

9. Нельзя использовать стеклянную посуду, если на ней имеются трещины и сколы. Нельзя пользоваться при проведении опытов грязной посудой.

10. Работы с вредными веществами проводить только под тягой. Концентрированные кислоты и щелочи наливать осторожно под вытяжным шкафом; не брать их на свои рабочие места.

11. Если случайно пролита кислота или щелочь, то необходимо быстро смыть раствор интенсивной струёй воды из водопроводного крана, а потом обратиться к лаборанту и по его указанию привести в надлежащий порядок свое рабочее место.

12. Горячие приборы и посуду ставить только на специальные подставки, а не на открытый стол.

13. О любой нештатной ситуации, неисправности или поломке сообщить лаборанту.

14. После окончания работы нужно вымыть использованную посуду, выключить воду, электричество и приведенное в порядок место сдать лаборанту.

15. Тщательно вымыть руки теплой водой с мылом.

1.3.1. Проницаемость искусственных и биологических мембран

Одна из важнейших функций биологической мембраны (БМ) заключается в обеспечении обмена ионов и молекул между клеткой и окружающей средой. Способность биологических мембран пропускать через себя различные вещества называется проницаемостью. Изучение проницаемости клеток имеет большое значение, поскольку с данной функцией связаны практически все процессы жизнедеятельности клетки: метаболизм, генерация и проведение биопотенциалов, секреция, рецепция и т. д.

Биологические мембраны проницаемы лишь для небольшого числа низкомолекулярных жирорастворимых веществ (глицерин, спирты, мочевины и др.). Такая проницаемость (простая диффузия) играет сравнительно малую роль в процессах переноса веществ через мембраны. Более важные процессы переноса (транслокации) веществ через мембрану происходят с участием специфических систем транспорта.

Из неорганических веществ, которые входят в клетку, самым значимым по объему является вода. Вода движется по градиенту водного потенциала.

Водный потенциал – это сила, вызывающая осмос, т. е. преодоление молекулами воды полупроницаемого барьера, например, клеточной мембраны. Водный потенциал обозначается символом Ψ .

Чем больше концентрация воды в системе, тем быстрее и легче ее молекулы будут двигаться в направлении, где их меньше. Соответственно, самым высоким водным потенциалом обладает чистая вода. Принято считать, что

водный потенциал чистой воды при нормальных условиях ($t=25^{\circ}\text{C}$ и нормальном атмосферном давлении) максимальный и равен 0.

Все системы, в которых вода составляет не 100%, а меньше, имеют меньший водный потенциал, который обозначается отрицательными значениями (меньше 0). Вода всегда движется в сторону более низкого водного потенциала.

Чаще всего водный потенциал измеряют в тех же единицах, что и любое давление – в паскалях, ньютонах, барах, атмосферах и т. д.

Сухой воздух имеет очень низкий водный потенциал. При влажности воздуха 80% водный потенциал достигает значений порядка - 30 МПа, при 50% влажности воздуха - 100 МПа. В почве водный потенциал не достигает таких высоких значений. В зависимости от типа и активности почв значения водного потенциала колеблются в широких пределах: от -5 МПа до -0,5 МПа. Растения занимают промежуточное положение в интервале значений водного потенциала воздух-почва (в клетках корня -0,6÷-0,8 МПа, в надземных органах -1,0÷-1,5 МПа). Вода всегда движется в сторону более низкого водного потенциала.

Водный потенциал клетки

Водный потенциал клетки ($\Psi_{\text{кл}}$) – это разность между свободной энергией воды внутри и вне клетки. Водный потенциал растительной клетки зависит от нескольких параметров.

- $\Psi_{\text{осм}}$ – осмотического потенциала, отражающего влияние на активность воды частиц растворенных веществ. Определяется концентрацией растворенного вещества,

чем она выше, тем в большей степени уменьшается водный потенциал клетки.

- Ψ_d – потенциала давления, отражающего активность воды механического (тургорного) давления. Представляет собой противодействие клеточной оболочке, возникающее при ее эластичном растяжении. Положительное давление повышает водный потенциал, отрицательное – его снижает.
- Ψ_m – матричного потенциала, отражающего влияние на активность воды молекул полимеров. Сила набухания может достигать -100 МПа, например, при поглощении воды сухими семенами.
- Ψ_{gr} – гравитационного потенциала, отражающего влияние на активность воды силы тяжести и заметно сказывающегося только при поднятии воды на относительно большую высоту (например, у высоких деревьев).

Величины $\Psi_{осм}$, Ψ_m , Ψ_{gr} всегда отрицательны, так как снижают активность воды; Ψ_d , напротив, положителен, так как при действии на воду механического давления активность ее молекул увеличивается. Отсюда:

$$- \Psi_{кл} = (-\Psi_{осм}) + \Psi_d + (-\Psi_m) + (-\Psi_{gr}).$$

Возможность поглощать воду в данный момент характеризуется водным потенциалом, основными составляющими которого для большинства ситуаций является осмотический потенциал и потенциал давления, зависящий от степени насыщенности клеток водой. Тогда формула примет вид:

$$- \Psi_{кл} = (-\Psi_{осм}) + \Psi_d$$

При замене термодинамических показателей на осмотические мы получаем формулу:

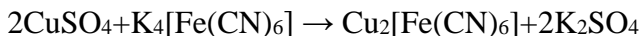
$$S_{\text{кл}} = P_{\text{кл}} - T_{\text{кл}}, \text{ где}$$

$S_{\text{кл}}$ – водный потенциал клетки (сосущая сила); $P_{\text{кл}}$ – осмотическое давление; $T_{\text{кл}}$ – тургорное давление.

1. Искусственная «клеточка Траубе»

Свойством полупроницаемости, аналогично растительной мембране – плазмалемме, обладают и некоторые химические соединения. В частности, такое свойство имеет пленка железосинеродистой меди.

Около кристалла желтой кровяной соли в растворе медного купороса быстро образуется полупроницаемая перепонка железо-синеродистой меди. Реакция идет по уравнению:



Цель работы: получить пленку из железосинеродистой меди, обладающей свойствами полупроницаемости.

Ход работы:

1. В пробирку налить 0,5%-ый раствор сульфата меди и поместить кристаллик желтой кровяной соли.

2. Зарисовать процесс формирования «клеточки Траубе» в пробирке (рис. 18), подписать вещества.

3. Записать уравнение реакции. В выводе отметить причины формирования «клеточки Траубе».

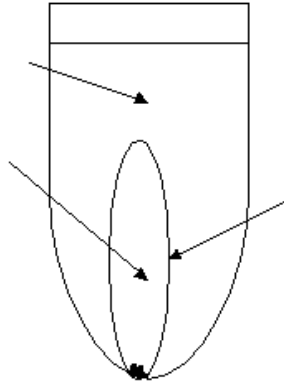


Рис. 18. Формирование «клеточки Траубе».

Вопросы:

1. По какой причине вода начинает поступать внутрь образовавшейся «клеточки»? 2. До какого момента будет продолжаться рост «клеточки»? 3. Как будет меняться цвет раствора CuSO_4 в пробирке? Ответ поясните.

Реактивы: $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Материалы и оборудование: штативы, пробирка на 10–20 мл, пинцеты.

2. Сравнение проницаемости живых и мертвых клеток

Такое явление, как прижизненное окрашивание свидетельствует о полупроницаемости клеточных мембран. Красители, дающие окрашивание живой клетки, в слабых растворах которых они остаются длительное время живыми, называются витальными.

Молекулы нейтрального красного поступают в клетку в молекулярной форме и не задерживаются в цитоплазме живой растительной клетки. Проходя через тонопласт

в кислый клеточный сок (рН менее 6) нейтральный красный переходит в ионную форму и уже не может выйти из вакуоли. Поэтому у живых клеток краситель окрашивает вакуоли в розовый цвет, а ядро и цитоплазма остаются неокрашенными.

У мертвых клеток, проницаемость мембран нарушается, изменяется структура цитоплазмы и краситель накапливается в цитоплазме, а в вакуолярном соке он не задерживается. Поэтому у мертвых клеток ярко окрашивается ядро, в меньшей степени цитоплазма, а вакуоли остаются неокрашенными. Цвет окраски зависит от рН, при $\text{pH} > 7,0$ нейтральный красный находится в форме недиссоциированных молекул и имеет желтую окраску.

Цель работы: ознакомиться с методами, позволяющими выявить состояние растительных клеток с помощью их окрашивания.

Объект: луковица лука репчатого.

Ход работы:

1. Приготовить рабочий раствор нейтрального красного (1:10 000) путем разбавления в 10 раз водопроводной водой (рН 7,3-7,6) основного раствора 1:1000 (см. прил. 1). Так как накопление нейтрального красного в вакуоли происходит лишь тогда, когда наружный раствор имеет рН более 7.

2. На вогнутой поверхности чешуи луковицы лезвием безопасной бритвы сделать надрезы в виде небольших квадратиков. Уголок квадратика надрезанной эпидермы захватить пинцетом, легко снять ее с чешуи и поместить в раствор красителя на часовое стекло. Выдержать в этом растворе 10-15 мин.

3. Затем, накрыв препарат стеклом, рассмотреть его при малом, а потом при большом увеличении. При малом увеличении отчетливо видны розовые и розовато-оранжевые вакуоли, накопившие краситель. Интенсивность их окраски в соседних клетках может быть разной, так как клетки различаются по скорости накопления красителя. Отсутствие окраски в цитоплазме и ядре этих клеток легко обнаружить при большом увеличении.

4. Окрашенные клетки «убивают», подержав предметное стекло над пламенем спиртовки до тех пор, пока под покровным стеклом не начнут появляться пузырьки. Затем снова рассматривают препарат под микроскопом.

После гибели клеток окраска их изменяется: ярко окрашивается ядро, менее ярко — цитоплазма, расположенная тонким слоем вдоль стенок, а в вакуолях окраска исчезает.

5. Зарисовать полученные результаты. Сравнить окраску живых и мертвых клеток. Сделать выводы.

Вопросы:

1. Какие красители называют витальными? 2. По какой причине в живых клетках вакуоль окрашивается нейтральным красным в розовый цвет? 3. При гибели клеток происходит исчезновение окраски вакуоли, объясните произошедшие процессы.

Реактивы: раствор нейтрального красного (1:1000) на дистиллированной воде.

Материалы и оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла, лезвие безопасной бритвы, фильтровальная бумага, спиртовка, пинцет, препаровальная игла.

1.3.2. Диагностика повреждения растительной ткани по увеличению ее проницаемости

Все важнейшие проявления жизнедеятельности клетки связаны с мембранами. Одним из наиболее общих, неспецифических и быстрых ответов растительного организма на воздействие различных факторов внешней среды является изменение проницаемости клеточных мембран.

Удобным объектом для наблюдения служат ткани растений, клетки которых содержат в вакуолях красящие вещества, например, бетацианин. Этот пигмент находится в клеточном соке, хорошо растворим в воде и его молекула имеет достаточно большие размеры (Mr 564). Чтобы попасть во внешнюю среду, молекула бетацианина должна пройти через тонопласт, основной цитоплазматический матрикс и плазмалемму. Диффузия бетацианина из вакуоли в среду может проходить достаточно быстро при действии различных факторов или агентов, вызывающих изменение проницаемости мембран.

Цель работы: показать, что живая протоплазма непроницаема для ряда веществ клеточного сока, наркотизированная или мертвая протоплазма теряет это свойство, и содержимое клетки свободно диффундирует наружу.

Объект: корнеплод красной столовой свеклы.

Ход работы:

1. Из очищенного корнеплода вырезать брусочки мякоти диаметром 0,6-0,8 см, высотой 4 см. Брусочки тщательно промыть водопроводной водой.

2. Поместить по одному брусочку в 5 пробирок, содержащих по 5 мл различных растворов: кипяченая и некипяченая вода, хлороформ, уксусная кислота, спирт. Схе-

ма опыта представлена в табл. 5. Кусочки должны быть полностью погружены в растворы.

Таблица 5

Схема опыта и результаты эксперимента

	Вариант опыта (№ пробирки)				
	1	2	3	4	5
	Водо- про- водная вода (20 °С)	Кипяченая водопр- водная вода (100 °С)	Водопр- водная вода + 6 капель хлороформа	30%- ый рас- твор уксус- ной кисло- ты	50%-ый раствор этило- вого спирта
Степень окраски раствора (показа- тель ОП по ФЭК)					
Степень поврежде- ния мем- бран в % от макс.					

3. Вариант опыта с кипячением выполняют следующим образом. В пробирку с водой кладут брусочек и доводят до кипения, кипятят на спиртовке. Затем брусочек вынимают, охлаждают и опускают в пробирку, содержащую 5 мл холодной кипяченой водопроводной воды.

4. Через 30 мин после начала опыта все пробирки встряхнуть, бруски свеклы извлечь и сравнить количество вышедшего из клеток пигмента в разных вариантах опыта.

5. При помощи фотоэлектроколориметра (ФЭК) при длине волны 430-450 нм определить оптическую плотность (ОП) растворов. В качестве контроля взять воду.

6. Результаты измерения оптической плотности записать в табл. 5. По результатам наблюдения сделать вывод о проницаемости живой, наркотизированной или мертвой протоплазмы для клеточного сока.

Вопросы:

1. Какие особенности строения плазмалеммы обеспечивают ее полупроницаемость? 2. В чем причины разной проницаемости тонопласта и плазмалеммы растительной клетки для одного и того же вещества?

Реактивы: хлороформ, 30%-й раствор уксусной кислоты, 50%-й C_2H_5OH .

Материалы и оборудование: корнеплод столовой свеклы, штативы с пробирками, пробкорез и скальпель, линейки, пипетки на 10 мл, ФЭК.

1.3.3. Интенсивность фотосинтеза водного растения при изменениях условий внешней среды

Для характеристики интенсивности фотосинтеза могут быть использованы различные методы, но наиболее распространенными являются газометрические, основанные на учете количества или поглощенной углекислоты, или выделения кислорода. Приуроченность газов к этапам представлена на рис. 19.

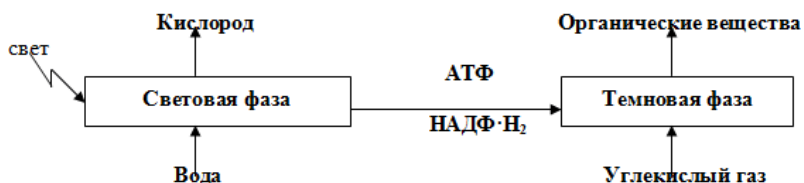


Рис. 19. Взаимосвязь этапов фотосинтеза

Фотосинтез, как и любой физиологический процесс, зависит от условий окружающей среды. Влияние внешних условий может быть продемонстрировано простыми опытами с водными растениями.

Элодея (или иное водное растение), обращенная срезом стебля кверху, на свету выделяет пузырьки кислорода. Кислород, образующийся в ходе фотосинтеза, диффундирует в окружающую растение воду значительно медленнее, чем поступает углекислота, поэтому он накапливается в межклетниках. Когда на стебле делается срез, избыток газа начинает выделяться в виде непрерывного тока пузырьков, скорость образования которых зависит от скорости процесса ассимиляции. Изменяя температуру воды, содержание углекислого газа, интенсивность и спектральный состав света, одновременно подсчитывая число выде-

ляющихся пузырьков в единицу времени, можно определить зависимость фотосинтеза от этих условий.

Данный метод не отличается большой точностью, но очень прост в выполнении и дает наглядное представление о зависимости фотосинтеза от внешних условий.

Цель работы: Определить характер влияния внешних условий на интенсивность фотосинтеза, подсчитывая число выделяющихся пузырьков кислорода.

Объект: Веточка водного растения длиной 6-8 см (элодея густая, э. канадская, валлиснерия спиральная и др.), но предпочтение следует отдать элодее.

Ход работы:

1. В химический стаканчик объемом 100-150 мл налить отстоявшейся водопроводной воды комнатной температуры, внести в воду небольшое количество (на кончике ножа) соды (гидрокарбонат натрия) и размешать.

2. Здоровый побег водного растения с неповрежденной верхушечной почкой закрепить на стеклянной палочке срезанным концом вверх, слегка привязав ниткой (чтобы побег не всплывал). Поместить его в химический стаканчик на 100-150 мл, отрегулировать положение растения так, чтобы уровень воды был выше конца побега приблизительно на 1,5-2 см.

3. Перед началом опыта обновить срез побега под водой при помощи лезвия бритвы для устранения возможной закупорки путей при выходе газа.

4. Стаканчик с веточкой поместить в большой химический стакан, наполненный чистой водой комнатной температуры (это теплоизоляционный белый экран).

5. Во внутренний маленький стаканчик с элодеей поместить термометр, чтобы в течение всего эксперимента контролировать температуру воды, окружающую растение.

6. Выставить подготовленную таким образом веточку элодеи на яркий свет, поставив большой стакан, внутри которого маленький с растением, на столик-подставку прямо напротив включенной электролампы. Через 2-3 мин. можно заметить выделение пузырьков газа со среза веточки. Если пузырьки воздуха на ярком свету не выделяются, необходимо вновь обновить срез под водой лезвием бритвы, не передавливая стебель.

7. Когда ток пузырьков станет равномерным, переворачивая песочные часы, подсчитать количество выделяющихся пузырьков за определенный промежуток времени в различных условиях эксперимента.

Выбор часов зависит от скорости выделения пузырьков: очень быстро – 1 мин., средняя скорость – 3 мин., очень медленно – 5 мин.

Распределить по столам варианты опыта:

А. Влияние света на интенсивность фотосинтеза

Интенсивность света, падающего на объект, обратно пропорциональна квадрату расстояния от источника света. Другими словами, если увеличить расстояние между растением и лампой вдвое, то освещенность уменьшится в 4 раза.

✓ Интенсивность фотосинтеза в белом свете

Помещая одну и ту же веточку на различном расстоянии от источника белого света (табл. 6), подсчитать количество выделенных пузырьков за один и тот же промежуток времени. Внести результаты в табл. 6. Прежде чем

производить подсчет количества пузырьков при разном расстоянии, необходимо каждый раз выждать 2-3 мин., чтобы дать растению адаптироваться к изменившимся условиям (то есть прийти к состоянию равновесия).

Таблица 6

Влияние света на интенсивность фотосинтеза

В лучах белого света										
	Расстояние до источника, см									
	10	15	20	25	30	25	20	15	10	5
Количество пузырьков, выделенных веточкой										
Количество пузырьков в % от макс.										
В лучах красного света										
	Расстояние до источника, см									
	10	15	20	25	30	25	20	15	10	5
Количество пузырьков, выделенных веточкой										
Количество пузырьков в % от макс.										

Каждый раз необходимо контролировать температуру воды во внутреннем стаканчике, она должна быть по-

стоянной. В случае отклонения отрегулировать температуру. Результаты заполнить по форме (табл. 6). Записать температуру и время подсчета, отметить максимальное значение.

✓ **Интенсивность фотосинтеза в красном свете**

Разместить маленький стаканчик с растением в большом стакане с красным светофильтром. Уровень раствора в большом стакане должен быть таким, чтобы экран перекрывал все растение. Помещая веточку на различном расстоянии от источника света (табл. 6), подсчитать количество выделенных пузырьков за один и тот же промежуток времени, записать результаты. Прежде чем производить подсчет количества пузырьков при разном расстоянии, необходимо каждый раз выждать 2–3 мин., чтобы дать растению адаптироваться к изменившимся условиям (то есть прийти к состоянию равновесия).

Каждый раз контролировать температуру воды во внутреннем стаканчике, она должна быть постоянной. В случае отклонения – отрегулировать температуру. Записать температуру и время подсчета.

Пересчитать количество пузырьков в % от максимума, при освещении растения белым и красным светом. Отметить максимальное значение. Рассчитать среднее значение при одном расстоянии и построить график.

Б. Влияние температуры на интенсивность фотосинтеза

Подготовленный (см. п. 2) побег водного растения разместить на расстоянии 10 см от лампы. Провести подсчет пузырьков при комнатной температуре.

✓ Интенсивность фотосинтеза при понижении температуры

В наружный стакан добавить холодную воду и когда температура воды в маленьком стаканчике опустится до необходимой (см. табл. 7), провести подсчет пузырьков. Повторить действия, чтобы заполнить таблицу полностью. Пересчитать количество пузырьков в % от максимума.

Прежде чем производить подсчет количества пузырьков, необходимо каждый раз выждать 2-3 мин., чтобы дать растению адаптироваться к изменившимся условиям (то есть прийти к состоянию равновесия).

Таблица 7

Влияние снижения температуры среды
на интенсивность фотосинтеза

Температура воды							
	25	22	19	16	13	10	7
Количество пузырьков, выделенных веточкой элодеи							
Количество пузырьков в % от макс.							

✓ Интенсивность фотосинтеза при повышении температуры

В наружный стакан добавить горячую воду и когда температура воды в маленьком стаканчике поднимется до необходимой (см. табл. 8), провести подсчет пузырьков.

Повторить действия, чтобы заполнить таблицу полностью.
Пересчитать количество пузырьков в % от максимума.

Таблица 8

Влияние повышения температуры среды
на интенсивность фотосинтеза

Температура воды										
	25	28	31	34	37	40	43	46	49	52
Количество пузырьков, выделенных веточкой элодеи										
Количество пузырьков в % от макс.										

Прежде чем производить подсчет количества пузырьков, необходимо каждый раз выждать 2-3 мин., чтобы дать растению адаптироваться к изменившимся условиям (то есть прийти к состоянию равновесия).

На основе данных табл. 7 и 8 (количество пузырьков в % от максимума) построить график зависимости интенсивности фотосинтеза от температуры.

С. Влияние солености на интенсивность фотосинтеза

Подготовленный (см. п.2) побег водного растения поместить в узкий высокий стакан на 500-700 мл так, чтобы вода (дистиллированная) и растение занимали не более $\frac{1}{4}$ высоты. Объем воды должен быть точно измерен, что необходимо для дальнейшего расчета концентрации.

Разместить растение на расстоянии 10 см от лампы. Провести подсчет пузырьков при комнатной температуре и белом экране, записать результат в табл. 9.

Таблица 9

Влияние повышения солености среды
на интенсивность фотосинтеза

Повышение солености						
	Объем добавленного 5М раствора хлорида натрия					
	0	10	20	50	100	150
Количество пузырьков, выделенных веточкой элодеи						
Количество пузырьков в % от макс.						
Концентрация	0					

Во внутренний стакан добавить указанное в табл. 9 количество 5М раствора хлорида натрия. Прежде чем производить подсчет количества пузырьков, необходимо каждый раз выждать 2-3 мин., чтобы дать растению адаптироваться к изменившимся условиям (то есть прийти к состоянию равновесия).

Последовательно выполнить подсчеты и внести результаты в табл. 9. Пересчитать количество пузырьков в % от максимума. Рассчитать концентрацию раствора хлорида натрия в каждом варианте. Построить график зависимости интенсивности фотосинтеза от солености.

Сравнить графики изменения интенсивности фотосинтеза в условиях изменения показателей окружающей среды. Сделать выводы, объяснить характер зависимости фотосинтеза от: 1) интенсивности освещения; 2) качественного состава света; 3) температуры; 4) солености. Выявить оптимальные для фотосинтеза показатели окружающей среды для исследуемого растения.

Вопросы:

1. В какой фазе фотосинтеза выделяется кислород, каково его происхождение? 2. Почему вначале опыта в воду с веточкой элодеи добавляется гидрокарбонат натрия? 3. Почему интенсивность выделения кислорода зависит от расстояния к источнику света? 4. Как температура влияет на выделение кислорода при фотосинтезе? 5. Почему повышение солености окружающей среды изменяет интенсивность фотосинтеза?

Реактивы: Натрия гидрокарбонат, натрия хлорид, 1% раствор хромата (IV) калия, 4% раствор медного купороса, насыщенный аммиаком, отстоявшаяся водопроводная вода, горячая вода, холодная вода.

Материалы и оборудование:

А. Веточки элодеи или другого водного растения, сода, шпатели, электроплитка, кастрюля с кипятком, 3-литровая банка с водой в холодильнике, нитки.

Б. Лезвие бритвы, химический стаканчик на 100-150 мл, стеклянные палочки (2 шт.), песочные часы на 1, 3 и 5 мин., химический стакан на 500-700 мл, настольная лампа с электролампой (100–200 Вт), столик-подставка, колбы с жидким цветным экраном (красный), фарфоровая кружка, термометр, линейки (2 шт.).

1.3.4. Содержание хлорофилла в листьях растений разных ярусов фитоценоза, теневых и световых листьев одного растения

Количественные и качественные изменения пигментной системы являются чувствительным показателем физиологического состояния растений и их фотосинтетической активности (ФСА), направленности адаптивных реакций при воздействии стрессовых условий. Одним из наиболее удобных и точных методов определения содержания каждой группы фотосинтетических пигментов (каротин, хлорофилл а, хлорофилл в и т. д.) является установление их количества в вытяжке с помощью спектрофотометра. Этот метод позволяет установить концентрации отдельных пигментов без предварительного разделения вытяжки на компоненты и калибровочных кривых. Расчет содержания отдельных веществ в смеси производится по формулам, учитывающим положения максимумов поглощения пигментов и содержащим поправочные коэффициенты на наличие других пигментов и компонентов, рассеивающих свет.

Количество пигментов можно выразить в мг или в % в расчете на 1 г сырой или сухой массы, единицу площади (см^2 , дм^2) листа. Содержание хлорофиллов в листьях растений составляет в среднем около 0,3 % сырой массы (0,1-0,7 %). Каротиноидов в листьях примерно в 3-8 раз меньше, чем хлорофиллов.

Определение количества пигментов лучше всего проводить в свежих листьях. Однако если анализ на свежем материале сразу провести невозможно, то его необходимо зафиксировать горячим паром в течение двух минут для

предотвращения гидролиза хлорофиллов под действием хлорофиллазы. Растительный материал после фиксации высушивают между листами фильтровальной бумаги и хранят в темном и сухом месте.

При массовых анализах приготовление вытяжки на основе стандартной методики с использованием растирания с мелом и кварцевым песком не экономично, поэтому был разработан упрощенный метод с экстракцией спиртом из измельченного материала (патент RU2244916C1), который показал высокую сходимость результатов со стандартной методикой. Измельченное растительное сырье по приведенной методике заливают этиловым спиртом в емкостях, которые плотно закрывают, помещают в темное место и по истечении 24-48 ч экспозиции подвергают спектрометрическому измерению.

Для анализа количества пигментов на единицу площади листа из средней его части по одну сторону от главной жилки пробочным сверлом с диаметром 6-8 мм сделать 10-15 высечек, которые будут использованы для извлечения пигментов.

Цель работы: Сравнить содержание пигментов в разных листьях.

Объект: свежие или сухие теневые и световые листья одного растения; листья разных ярусов фитоценоза или других сравниваемых растений.

Ход работы:

1. Получить вытяжку пигментов из листьев растений. Для этого используют навеску 10 мг (для сухих листьев) и 10 мл 96-% этилового спирта. Время для экстракции (24-48 ч) и температура должны быть одинаковы для всех

сравниваемых объектов. При анализе свежих листьев их очищают от загрязнений при помощи влажной мягкой ткани, удаляют центральные жилки, готовят среднюю пробу, из которой берут навески массой 50-150 мг. Объем спирта и масса навески подбирается исходя из объекта, так чтобы можно было корректно измерить оптическую плотность.

2. Определить оптическую плотность растворов, результаты записать в табл. 10.

Таблица 10

Результаты определения содержания хлорофиллов

№ пробы	Повторности	Навеска листьев, мг	Объем вытяжки, мл	Оптическая плотность				Содержание пигментов, мг/г или мг/дм ²		
				D665	D649	D640	D720	Хлорофилл а	Хлорофилл в	Хл а + Хл в
1	1									
	2									
	3									
	Ср.									
2	1									
	2									
	3									
	Ср.									

Определение концентрации пигментов без их предварительного разделения в спиртовой вытяжке проводится на спектрофотометре при длинах волн – 665 и 649 нм. Мутность раствора измеряется при 720 нм. Показания спектрофотометра при 720 нм вычитаются из показаний при других длинах волн.

Удобнее взять 10 кювет, чтобы измерить при одной длине волны 3 пробы в 3-х повторностях, а затем перенстроить ФЭК на другую волну, установить 0 и вновь замерить оптическую плотность.

3. Вычислить концентрацию пигментов.

Концентрация пигментов (С) в мг/л вычисляется по формулам:

$$C_a = 13,7 \cdot D_{665} - 5,76 \cdot D_{649}$$

$$C_b = 25,80 \cdot D_{649} - 7,60 \cdot D_{665}$$

где C_a – концентрация хлорофилла в мг/л; C_b – концентрация хлорофилла в мг/л; D – найденное для исследуемого экстракта поглощение (при толщине слоя 1 см) при указанных длинах волн.

4. Рассчитать содержание пигментов в растительном сырье, результаты записать в табл. 10.

Определение количества пигментов в расчете на 1 г или 1 дм² проводится по формулам:

$$A = (C \cdot V) / (1000 \cdot m);$$

$$B = (C \cdot V) / (1000 \cdot S),$$

где A – количество пигментов, в мг/г сухой или сырой массы; B – количество пигментов, в мг/дм²; C – концентрация пигментов, в мг/л; V – объем вытяжки пигментов, в мл; m – навеска, в г; S – площадь всех дисков, в дм².

Вопросы:

1. На чем основан спектрофотометрический метод определения содержания пигментов? 2. С какой целью проводят измерение оптической плотности при 720 нм? 3. Как условия освещения влияют на количество пигментов в листе?

Реактивы: 96% этиловый спирт.

Материалы и оборудование: листья комнатных растений; весы; пробочное сверло; мерные цилиндры; спектрофотометр.

1.3.5. Обнаружение дубильных веществ в растениях

Дубильные вещества – сложные смеси растительных высокомолекулярных полимеров фенольных соединений с молекулярной массой от 300 до 5000, обладающие вяжущим вкусом. Наибольшее распространение имеют у представителей двудольных растений.

Физиологическое значение дубильных веществ связано с их участием в окислительно-восстановительных реакциях, они обладают бактерицидными и фунгицидными свойствами, препятствуют поеданию растений насекомыми и травоядными животными, т. к. при повреждении растений они образуют комплексы с белками, которые создают защитную пленку, препятствующую проникновению фитопатогенных организмов.

Дубильные вещества подразделяются на гидролизуемые и конденсированные.

К *гидролизуемым* относятся галловые и эллаговые дубильные вещества. Мономеры для этой группы представлены на рис. 20. Галловыми дубильными веществами являются галлотаннин или китайский танин, который образуется в листьях и листовых галлах различных видов растения сумаха.

Эллаговые дубильные вещества (состоят из эллаговой кислоты) содержатся в корке граната, кожуре незрелых грецких орехов, древесине эвкалипта.

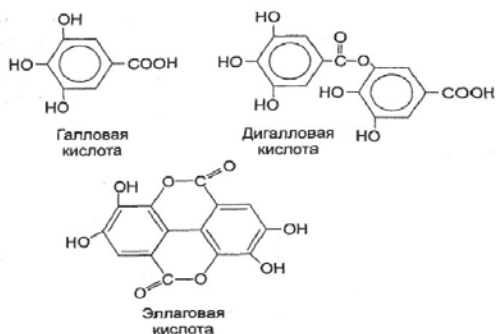


Рис. 20. Мономеры гидролизуемых дубильных веществ.

Конденсированные дубильные вещества являются полимерами катехинов или антоцианов (рис. 21) или сополимерами этих двух типов соединений. Они содержатся в коре ивы, сосны, ели, лиственницы, древесине некоторых видов акации, каштана и дуба.

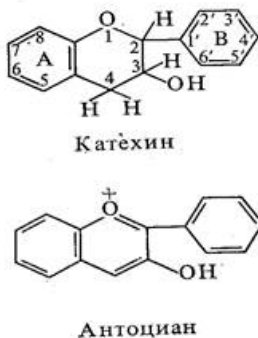


Рис. 21. Мономеры конденсированных дубильных веществ.

Термин «дубильные вещества» используется также в пищевой промышленности и в технической биохимии, для обозначения более низкомолекулярных соединений, обладающих вяжущим вкусом, но не способных к истин-

ному дублению. К пищевым дубильным веществам относят димеры катехинов, образующиеся при изготовлении черного чая (имеют слабо вязущий вкус и характерную золотисто-красную окраску).

Самой специфичной реакцией на дубильные вещества является осаждение желатинового раствора, хотя разные группы дубильных веществ дают разное количество осадка. Используют 1 % раствор желатина на 10 % растворе натрия хлорида. Появляется хлопьевидный осадок или муть, исчезающие при добавлении избытка желатина. Отрицательная реакция с желатином свидетельствует об отсутствии дубильных веществ.

Характерной реакцией на дубильные вещества является их черно-зеленое или черно-синее окрашивание при добавлении железоаммонийных квасцов или обработке слабым раствором хлорного железа. О наличии гидролизующих дубильных веществ в растворе свидетельствует окраска в черно-синий цвет, конденсированные танины дают черно-зеленое окрашивание.

Цель работы: Определить наличие дубильных веществ в разных растениях или их частях.

Объект: листья дуба и комнатных растений, кора ивы и дуба, черный чай и другое.

Ход работы:

1. Для получения суммы дубильных веществ растительное сырье экстрагируют горячей водой в соотношении 1:30 или 1:10. Измельченную массу растительного материала поместить в пробирку, залить водой и кипятить в течение 5 минут.

2. В чистую пробирку налить 1 мл полученной вытяжки и прибавить 2-3 капли хлорного железа. Отметить изменения окраски растворов.

3. В чистую пробирку налить 5 мл раствора желатина и по каплям прибавить 1 мл вытяжки. Отметить появление мути или хлопьев.

4. В чистую пробирку налить 1 мл полученной вытяжки и прибавить 2-3 капли раствора железоммонийных квасцов. Отметить изменения окраски растворов.

5. Результаты наблюдений для разных объектов внести в табл. 11 и сделать выводы.

Таблица 11

Наличие дубильных веществ в растительном материале

Объект	Реакция с хлоридом железа	Реакция с раствором железоммонийных квасцов	Реакция осаждения желатина	Наличие дубильных веществ

Вопросы:

1. Какие вещества называются дубильными? 2. Как классифицируют дубильные вещества? Какова их химическая природа? 3. Какие функции выполняют дубильные вещества в растениях?

Реактивы: 1 % раствор хлорного железа, 1% раствора железоаммонийных квасцов, 1% раствор желатина на 10% растворе хлорида натрия.

Материалы и оборудование: чай, листья дуба и комнатных растений, кора ивы и дуба, пробирки, пипетки, фарфоровые чашки.

1.4. Вопросы коллоквиума 1

1. Работы российских ученых-физиологов, занимающихся вопросами адаптации (устойчивости) растений к неблагоприятным условиям.
2. Стресс и его фазы.
3. Физиологические основы адаптации растений на клеточном уровне.
4. Физиологические основы адаптации растений на организменном уровне.
5. Сравнение систем управления животных и растений.
6. Теория рефлекса в адаптации растений.
7. Рецепция у растений. Хеморецепция.
8. Фоторецепция у растений. Фотосинтетические пигменты.
9. Фоторецепция у растений. Фотоморфогенные пигменты.
10. Концепция ДАО в растении.
11. Концепция адаптивных стратегий растений.
12. Роль процессов дыхания в адаптации растений.
13. Роль фотосинтетических процессов в адаптации растений.

1.5. Список литературы по разделу 1

1. Войцеховская, О. В. Фитохромы и другие (фото)рецепторы информации у растений / О. В. Войцеховская // Физиология растений. – 2019. – Т. 66, – № 3, С. 163-177.
2. Головкова, Т. К. Донорно-акцепторные связи в растении картофеля // Т. К. Головкова, Г. Н. Табаленкова // Физиология растений. – 2019. – Т. 66, – № 4. С. 313-320.
3. Избранные главы экологической физиологии растений: учеб.-метод. пособие для семинар. занятий / Сиб. федерал. ун-т ; сост.: Т. И. Голованова, Н. А. Гаевский. – Электрон. текстовые дан. (PDF, 244 Кб). – Красноярск : СФУ, 2013. – URL: <https://elib.sfu-kras.ru/handle/2311/62298?show=full> (дата обращения: 20.05.2023)
4. Изменение донорно-акцепторных отношений и активности фотосинтеза листьев в результате селекции растений гречихи на семенную продуктивность / А. В. Амелин [и др.] // Вестник ОрелГАУ. – 2022. – №5 (98). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/izmenenie-donorno-aktseptornyh-otnosheniy-i-aktivnosti-fotosinteza-listiev-v-rezultate-selektsii-rasteniy-grechihhi-na-semennuuu> (дата обращения: 20.05.2023)
5. Косулина, Л. Г. Физиология устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды / Л. Г. Косулина, Э. К. Луценко, В. А. Аксенова. – 1993. – URL: <http://plantlife.ru/books/item/f00/s00/z0000046/st023.shtml> (дата обращения: 20.05.2023).
6. Курсанов, А. Л. Транспорт ассимилятов в растении / Курсанов А. Л. – Москва : Наука, 1976. – 646 с.

7. Мокроносов, А. Т. Фотосинтетическая функция и целостность растительного организма / А. Т. Мокроносов. – Москва : Наука. – 1983. – 64 с.
8. Селье Г. На уровне целого организма / Г. Селье. – Москва : Наука, 1972. – 122 с.
9. Растение и стресс: Курс лекций. Екатеринбург. – 2008. URL:https://elar.urfu.ru/bitstream/10995/1580/4/1333214_lectures.pdf (дата обращения: 20.05.2023)
10. Савинов, А. Б. Развитие представлений об активности растений, ее экологической роли и способах оценки в экосистемах / А. Б. Савинов, Ю. Д. Никитин // Принципы экологии. – 2017. – № 3. С. 20–39. DOI: 10.15393/j1.art.2017.6224
11. Тарчевский, И. А. Катаболизм и стресс растений / И. А. Тарчевский. – Москва : Наука, 1993. – 83 с.
12. Тарчевский, И. А. Сигнальные системы клеток растений / И. А. Тарчевский; [Отв. ред. А.Н. Гречкин]. – Москва : Наука, 2002. – 294 с.
13. Тейлор, Д. Биология: в трех томах / Д. Тейлор, Н. Грин, У. Стаут; под редакцией Р. Сопера. - 11-е изд. - Москва: Лаборатория знаний, сор. 2019. Т. 3 / перевод с английского Ю. Л. Амченкова [и др.]. – 2019. – 451 с.
14. Тихомиров, А. А. Светокультура растений: биофизические и биотехнологические основы / А. А. Тихомиров, В. П. Шарупич, Г. М. Лисовский. – Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2000. - 213 с.
15. Трапезников В. К., Иванов И. И., Тальвинская Н. Г. Локальное питание растений. Уфа: Гилем, 1999. – 260 с.

16. Усманов, И. Ю. Экологическая физиология растений: Учебник / И. Ю. Усманов, З. Ф. Рахманкулова, А. Ю. Кулагин. – Москва : Логос, 2001. – 222 с.
17. Учебная практика по физиологии и биохимии растений: учеб. пособие / сост. О. А. Четина, Л. А. Чудинова; Перм. гос. нац. исслед. ун-т. – Пермь : 2018. – 94 с.
18. Физиология растений: лабораторный практикум для студентов биологического факультета [Электронный ресурс] / А. П. Кудряшов [и др.]. – Минск : БГУ, 2011 – Режим доступа : <http://www.elib.bsu.by>, ограниченный. ISBN 978-985-518-501-8.
19. Чиркова, Т. В. Физиологические основы устойчивости растений / Т.В. Чиркова – СПб.: СПбГУ, 2002. – 244 с.

РАЗДЕЛ 2. ФАКТОРИАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ

Растения широко распространены на земном шаре, и освоили различные условия, адаптируясь под разнообразные климатические и эдафические параметры. Все влияющие на организм элементы окружающей среды называются *экологическими факторами*. Есть разные подходы к их классификации. Здесь приведены лишь три варианта.

По своей природе их можно разделить на три группы:

- а. физические: недостаточная или избыточная влажность, освещенность или температура, радиоактивное излучение, механические воздействия;
- б. химические: соли, газы, ксенобиотики (гербициды, инсектициды, фунгициды, промышленные отходы и др.);
- в. биологические (поражение возбудителями болезней или вредителями, конкуренция с другими растениями, влияние животных, цветение, созревание плодов).

Можно разделить факторы *по происхождению*:

- а. абиотические (климатические, эдафические, орографические, химические, физические);
- б. биотические (фитогенные, микогенные, зоогенные, микробиогенные);
- в. антропогенные (прямое, косвенное и условно антропогенное влияние).

По расходованию они делятся на факторы-ресурсы и факторы-условия.

Экологические ресурсы – факторы, которые в процессе жизнедеятельности организмами потребляются и расходуются:

- свет, вода, элементы минерального питания, углекислый газ вокруг фотосинтетических органов, кислород в почвенном воздухе и воде;
- организмы (живые и мертвые), которые для других организмов имеют значение как пищевые ресурсы;
- физическое пространство, так как все другие потребляемые ресурсы занимают определенную территорию.

Экологические условия (факторы-условия) – факторы, которые не расходуются в процессе жизнедеятельности организмов. Это тепло, влажность воздуха, кислотность среды, соленость и скорость течения воды, содержание неиспользуемых в питании загрязняющих веществ. При этом, хотя конкуренции за факторы-условия не происходит, они существенно влияют на способность растений конкурировать за ресурсы.

Реакция растений на изменение экологических факторов

Большинство растений обитает в условиях значительного колебания параметров окружающей среды. При этом далеко не всегда эти параметры соответствуют оптимальному растению. Комплекс факторов, вызывающих у растений стресс, приведен на рис. 22. Здесь выделены только естественные биотические и абиотические факторы. Это лишь общая схема без уточнения параметров, при этом факторы могут значительно варьировать.

Так абиотические факторы среды имеют минимальные и максимальные значения, за пределами которых организм погибает. Вопрос о влиянии количественных показателей среды на растение рассматривал еще Ю. Либих,

однако он говорил лишь о минимальных значениях. Дополнил представление о влиянии факторов среды В. Шелфорд, поэтому данную зависимость называют законом толерантности Шелфорда. Согласно данному закону, существование организма определяется лимитирующими факторами, находящимися не только в минимуме, но и в максимуме.

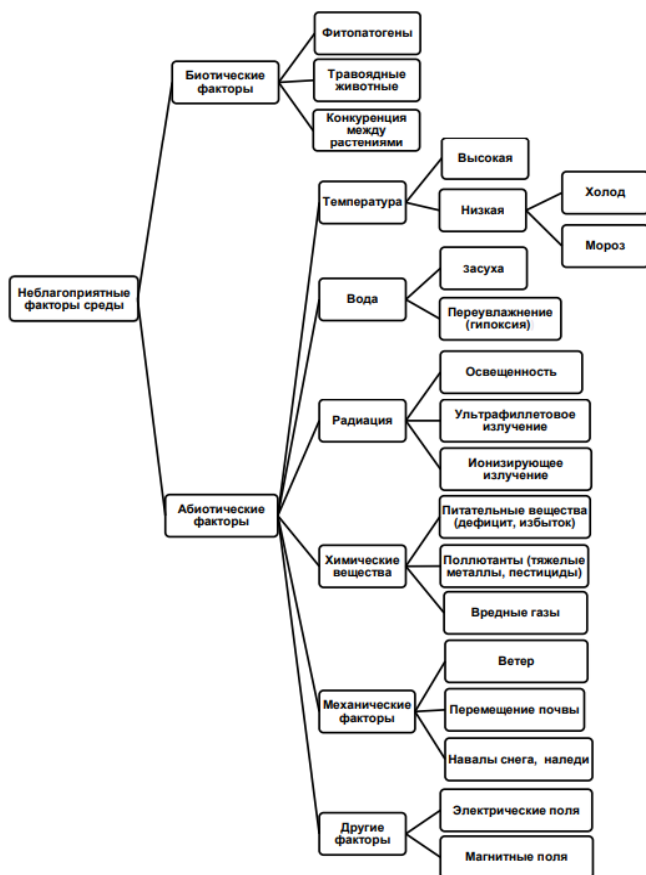


Рис. 22. Факторы внешней среды, вызывающие у растений стресс (по Новиковой, Зотикову, 2015).

Графическое отражение закона представлено на рис. 23. Крайние значения фактора являются пороговыми, за которыми не возможна жизнь данного конкретного вида. В пределах диапазона устойчивости (толерантная зона), который обусловлен генотипом, колебания фактора не грозят организму гибелью.

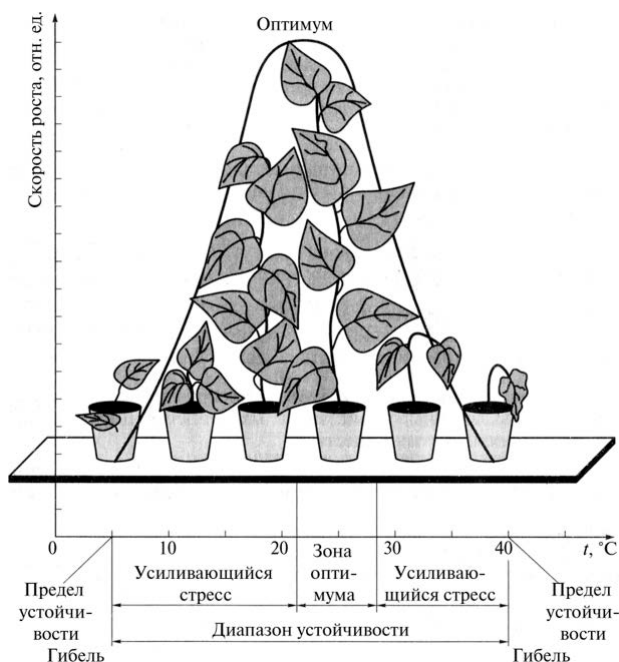


Рис. 23. Диапазон устойчивости растений.

При этом разные виды растений отличаются как оптимумами, так способностью приспосабливаться к определенному фактору. Эта характеристика называется пластичностью и хорошо проиллюстрирована на рис. 24.

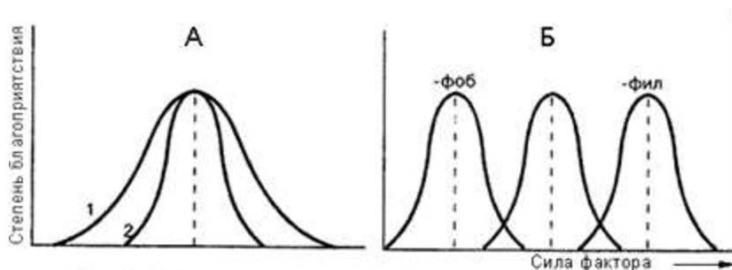


Рис. 24. Экологическая пластичность видов (по Одуму, 1986). А – эврибионтный (1) и стенобионтный (2) виды по отношению к данному фактору; Б – виды, отличающиеся по положению оптимума.

Адаптация в зоне толерантности базируется на изменении метаболизма и энзиматической активности, которое может происходить как под влиянием изменившейся активности генетического аппарата организма, так и в результате непосредственного влияния на активность метаболизма изменившегося фактора. Именно в пределах зоны толерантности работают механизмы физиологической адаптации, способствующие проявлению потенциальных возможностей генотипа.

За этими пределами начинается летальная зона, и в ней организм работает не на нормализацию метаболизма, а на репарацию повреждения и увеличение времени жизни клеток при экстремальных изменениях условий среды.

Устойчивость растений

В биологическом смысле под устойчивостью понимают способность растения переносить неблагоприятные (экстремальные) условия с сохранением активной жизнедеятельности и способности к размножению. Однако нередко у устойчивых растений происходит снижение про-

дуктивности, что нежелательно. Поэтому существует агрономическое понятие устойчивости как способности культурных растений переносить неблагоприятные условия без снижения урожайности.

Физиологической основой устойчивости является возможность организма переключать метаболические пути (прил. 2) при изменении условий обитания с основных на второстепенные или альтернативные. У растений подобные возможности очень широки – это альтернативные пути дыхания, фотосинтеза, синтеза различных веществ, образования изоферментов.

Устойчивость позволяет реализовать одну из функций организма – защитную, и формируется на основе комплекса изменений (рис. 25). Необходимо рассмотреть два направления: ресурсы надежности у растения и способы защиты от стрессора.

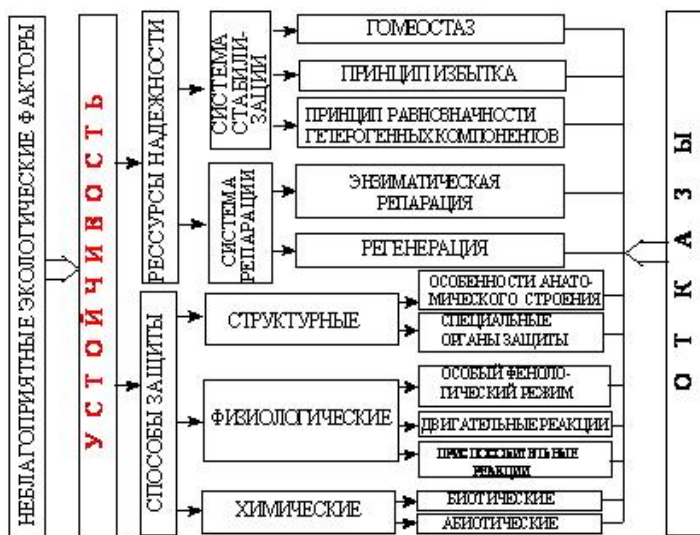


Рис. 25. Формирование устойчивости растений (по Туманову, Чирук, 1997).

I. Ресурсы надежности – способность организма не допускать или ликвидировать отказы (нарушения в обмене веществ и физиологических функциях разного уровня организации: молекулярного, субклеточного, организменного и надорганизменного).

Ресурсы надежности, позволяющие растительному организму безотказно функционировать в норме и при отклонении от нормы, обеспечивают следующие системы:

1. *Система стабилизации* – не допускает возникновения отказов и складывается:

а) из механизмов гомеостаза (в том числе физиологического);
б) из принципа избытка – создается избыток структур и компонентов биологических объектов разного уровня организации (полиплоидия, пазушные почки, формирование избытка семян и др.), обеспечивающих воспроизведение организма;

в) из принципа равнозначности гетерогенных компонентов – наличие разных по строению, локализации и т. д. структур и компонентов, позволяющих реализовать одну и ту же функцию (полифункциональность ферментов, взаимопревращения пластид, возможность окисления субстрата альтернативным путем в любой части растительной клетки, апикальное доминирование и др.).

2. *Система репарации* – ликвидирует возникающие отказы, обеспечивая целостность биологического объекта.

Включает:

а) энзиматическую репарацию – восстановление структур макромолекулярного уровня (например, ДНК);

б) регенерацию – восстановление целостности за счет деятельности специфических структур, например, клеток кал-

луса (на клеточном уровне – образование феллогена при заживлении ран, на органном – органогенез, на организменном – соматический эмбриогенез).

II. Способы защиты – арсенал защитных приспособлений (структурных, физиологических и химических особенностей организации растительного организма), позволяющих избежать или «терпеть» воздействие стрессора. Включает способы:

1. *Структурные:*

- а) особенности анатомического строения (кутикула, механическая ткань и т. д.);
- б) специальные органы защиты (колючки, жгучие волоски).

2. *Физиологические:*

- а) двигательные реакции (движение цитоплазмы, таксисы, нутации, тропизмы, настии);
- б) приспособительные реакции (закаливание, формирование определенного экотипа: С4-растения, САМ-метаболизм и др.);
- в) особый фенологический режим – переживание неблагоприятных условий в анабиозе (эфемеры).

3. *Химические:*

- а) абиотического назначения – вещества, синтезируемые растением (сахара, пролин и др.), увеличивающие его резистентность к воздействию неблагоприятного фактора;
- б) биотического назначения – синтез веществ (смолы, фитонциды, токсины) отпугивающих, повреждающих, уничтожающих другие организмы (например, патогены) [14].

Типы и виды устойчивости

Растения переносят экстремальные условия в различных состояниях. Многие виды впадают в состояние глубокого органического покоя (зимующие растения) или в криптобиоз = анабиоз (состояние скрытой жизни). Например, многие низшие растения и некоторые цветковые из группы пойкилогидровых не способны регулировать водный обмен и переносят недостаток воды в среде, обезвоживаясь до воздушно-сухого состояния. Большое число видов в неблагоприятных условиях не прекращают активной жизнедеятельности. Так, гомеогидровые растения, к которым относится большинство видов высших споровых и цветковых, в процессе эволюции выработали различные приспособления для регуляции водного обмена, поэтому в условиях водного дефицита они обезвоживаются частично и переносят засуху в состоянии активной жизнедеятельности.

Таким образом, выделяют два типа устойчивости:

- 1) пассивную – перенесение неблагоприятных условий в состоянии покоя или криптобиоза пассивно;
- 2) активную – перенесение неблагоприятного периода в состоянии интенсивной жизнедеятельности, когда растение имело нормальный рост и повышенный обмен веществ.

Условия окружающей среды, в которых обитают растения, весьма разнообразны. Соответственно многообразны и пути адаптации растений к этим условиям. Для удобства изучения виды устойчивости называют по главному (определяющему) фактору внешней среды, вызывающему

снижение жизнеспособности и продуктивности растений. Основными видами являются следующие:

- Морозоустойчивость – устойчивость к низким отрицательным температурам.
- Зимостойкость – устойчивость к неблагоприятным условиям перезимовки, включая и влияние низких температур (морозоустойчивость является частью зимостойкости).
- Холодоустойчивость – устойчивость к пониженным положительным температурам и кратковременным заморозкам, не вызывающим замерзания растений.
- Заморозкоустойчивость – устойчивость к заморозкам, вызывающим замерзание растений.
- Жароустойчивость – устойчивость к перегреву, то есть к повышенным температурам.
- Засухоустойчивость – устойчивость к действию обезвоживания (часто совмещается с устойчивостью к перегреву, но это бывает не всегда).
- Устойчивость к переувлажнению почвы и к полеганию, зависящая от устойчивости к недостатку кислорода в почве.
- Солеустойчивость – устойчивость к избытку растворимых солей в почве.
- Газо- и пылеустойчивость – устойчивость к газообразным и пылевидным выбросам промышленных предприятий.
- Радиоустойчивость – устойчивость к действию радиоактивных излучений.
- Иммунитет – устойчивость к патогенным микроорганизмам.

В преобладающем большинстве случаев действие всех неблагоприятных факторов не проявляется одновре-

менно, поэтому не все виды устойчивости одинаково важны для той или иной местности [17, 19, 20].

Методы исследования и оценки устойчивости растений

Методы оценки устойчивости растений подразделяются в зависимости от условий проведения работы на две группы: полевые и лабораторные. Несомненно, более объективны полевые методы, однако они продолжительны и их результат в сильной степени зависит от погодных условий. Для ускорения исследований разработаны лабораторные методы. К сожалению, в лабораториях трудно воспроизвести естественные условия, поэтому растения оказываются в искусственной среде. Правда, с изобретением фитотронов стало возможным создавать и поддерживать на определенном уровне многие факторы, имеющие значение для развития растений.

Лабораторные методы делятся на прямые и косвенные. К первой группе относятся методы учета повреждения и гибели растений после воздействия на них повреждающего фактора (например, охлаждения в холодильной камере) или определение физиологических показателей, непосредственно связанных с устойчивостью растения (в частности, водоудерживающей способности при засухе).

Косвенные методы подразумевают использование признаков, не связанных непосредственно с устойчивостью. Они часто субъективны, поскольку отдельно взятый признак не может характеризовать устойчивость целого растения, которая, по современным представлениям, обусловлена сложным комплексом признаков. Поэтому данная группа методов играет вспомогательную роль.

В течение длительного периода исследования устойчивости растений проводились в основном в полевых условиях, на цельных растениях. Однако в последние годы в связи с развитием сложных аналитических методов физиологи растений получили возможность проводить исследования на клеточном и субклеточном уровнях. Применение электронного микроскопа и дифференциального центрифугирования позволяет изучать первичные механизмы адаптации растений к экстремальным условиям среды. Не утратили своего значения и получают все большее развитие биохимические методы исследования, позволяющие обнаружить изменения содержания микроколичеств важных для жизнедеятельности веществ – нуклеиновых кислот, гормонов и др. Все шире в исследованиях по экологической физиологии используются математические методы – корреляционный анализ и моделирование [9, 12, 14, 15, 17, 19, 20].

2.1. Засухоустойчивость растений

Засухоустойчивость – способность растений в процессе онтогенеза переносить перегрев и обезвоживание и осуществлять в этих условиях свой рост, развитие и воспроизведение. Засуха – это длительный период бездождя, сопровождаемый непрерывным падением относительной влажности воздуха и повышением температуры.

Для растений, произрастающих в северо-западных районах нашей страны, где температура воздуха редко достигает $+30^{\circ}\text{C}$, основной причиной засухи является дефицит влаги в среде их обитания (засуха северного типа). У растений, обитающих в южных и юго-восточных районах, нарушение водообмена проявляется в основном при действии высоких температур (засуха южного типа).

Различают засуху атмосферную и почвенную. Атмосферная засуха характеризуется низкой относительной влажностью воздуха, почвенная – отсутствием доступной для растений воды в почве. Чаще всего эти виды засухи сопровождают друг друга.

В природе комбинация дефицита влаги в почве, атмосфере и высоких температур по-разному влияет на растения. Засуха северо-западного типа характеризуется низкой влажностью воздуха и почвы при умеренной температуре. Засуха юго-восточного типа характеризуется, как правило, пониженной влажностью воздуха и почвы в сочетании с высокими температурами. Следует отметить засуху мерзлотную, которая определяется действием низких температур и низкими значениями влажности почвы и воздуха.

Растения по отношению к воде можно поделить на две группы: *пойкилогидрические* и *гомойогидрические*.

Пойкилогидрические растения не способны регулировать свой водообмен. К этой группе относятся многие эпифитные и почвенные водоросли, лишайники, некоторые мхи, папоротники, папоротникообразные и некоторые покрытосеменные растения.

Реакция основных физиологических процессов на обезвоживание у пойкилогидрических растений в основном протекает однофазно - интенсивность дыхания и фотосинтеза постепенно снижается по мере потери ими воды. Кроме того, при водном дефиците у них не происходит существенных изменений в гормональном балансе, в частности, не накапливаются ингибиторы, что позволяет данным организмам быстро восстанавливать ростовую функцию сразу же после их увлажнения.

Гомойогидрические растения – это покрытосеменные высшие растения, которые регулируют свой водный режим. Некоторые из них способны выносить значительное обезвоживание, но оно не доходит до воздушно-сухого состояния, и эти растения не способны впасть в анабиоз. Этой способностью обладают только семена. Соотношение между добыванием и расходом воды у гомойогидрических растений складывается различным образом. Это зависит от многих факторов, в том числе от способности приспосабливаться к различным экологическим условиям.

Таким образом, в разных экологических условиях существуют различные по стратегии выживания группы растений.

Растения, которые живут в условиях отсутствия дефицита воды и, соответственно, не приспособлены к ее дефициту можно условно разделить на 3 группы: полно-

стью погруженных в воду *гидатофитов*, частично погруженных в воду растений прибрежных участков – *гидрофитов* и наземных растений, живущих в условиях высокой влажности воздуха – *гигрофитов*. В листьях таких растений много свободной и малосвязанной воды. Осмотическое давление у растений данных мест обитания самое низкое (0,8–5 атм). Все они не засухоустойчивы.

Растения, живущие в условиях нормального увлажнения, относят к *мезофитам*. Это довольно широкая группа и по способности регулировать свой водный обмен одни приближаются к гигрофитам (*мезогигрофиты*), другие – к засухоустойчивым формам (*мезоксерофиты*). Осмотическое давление у растений данной группы колеблется от 5 до 17 атм. В большинстве случаев засухоустойчивость растений данной группы невелика.

Наиболее разнородна группа растений, которые сталкиваются с дефицитом воды регулярно. Среди них есть виды, которые растут на аридных территориях, но за счет быстрого протекания онтогенеза не имеют физиологической устойчивости к засухе. Их относят к *эфемерам и эфемероидам*.

Растения, активно вегетирующие при дефиците воды, относят к ксерофитам. Это очень разнородная группа.

К *собственно ксерофитам (эуксерофитам)* относят сильноопушенные растения розеточной (полурозеточной) формы со сравнительно неглубокой, но разветвленной корневой системой. Они способны выносить сильное обезвоживание (до 60%) и перегрев, оставаясь физиологически активными. Все это благодаря высокой эластичности, водоудерживающей способности и вязкости цитоплазмы.

В таких условиях они имеют слабую транспирацию и высокую сосущую силу (40-50 атм). При этом активный рост растений данной группы происходит в более благоприятный период.

Растения, избегающие дефицита воды за счет формирования ее запасов в разных частях тела относят к **ложным ксерофитам (суккулентам)**. Для них отмечается невысокое осмотическое давление (3-8 атм) и небольшая сосущая сила, такие растения не переносят обезвоживания. Транспирация, фотосинтез (С_{АМ}-тип) и рост осуществляются медленно.

Среди ксерофитов можно выделить **гемиксерофитов (полуксерофитов)**, которые активно поглощают воду из глубоких почвенных слоев (за счет глубокой и разветвленной корневой системы) и не экономят ее. Для них типично очень высокое осмотическое давление и интенсивная транспирация. Растения данной группы не переносят обезвоживание, вязкость их цитоплазмы невелика.

Склерофиты – растения, у которых хорошо развита механическая ткань, поэтому даже при существенном дефиците воды (до 25%) они не завядают, сохраняют высокий уровень фотосинтеза, поэтому могут нормально развиваться в засуху. В клетках преобладает связанная вода, сосущая сила клеток корня достигает нескольких десятков атмосфер (60-80 атм).

В ряде случаев среди склерофитов выделяют группу **стипаксерофитов** – узколистных злаков, которые отличаются быстрым реагированием на внешние изменения. Они хорошо переносят перегрев, но чувствительны к обез-

воживанию. Для них типично снижение транспирации за счет сворачивания листа в трубочку.

Растения, растущие при низком значении влажности почвы и воздуха, но под действием низких температур, относят к *криофитам*. Они привязаны к сухим и очень сухим горным пустыням и потому имеют ксероморфную организацию, распространены в высокогорных районах с высокой инсоляцией [1, 6, 9, 10, 14, 15, 16, 19, 20, 21].

Гомеостатический порог оводненности клетки (ниже которого организм гибнет) для растений значительно варьирует и составляет: для гигрофитов 65-70%, для мезофитов -45-60%, для ксерофитов – 25-27%. Продолжительная засуха вызывает у большинства растений различного вида нарушения в обмене веществ:

1) ухудшается водный режим с появлением дефицита влаги, что вызывает торможение ростовых процессов, нарушение формообразования, повреждение фотосинтетического аппарата и снижение фотосинтеза;

2) увеличивается интенсивность дыхания, но оно оказывается непродуктивным, т. е. происходит разобщение окисления и фосфорилирования;

3) снижается вязкость протоплазмы, ее эластичность;

4) снижается синтетическая деятельность корней (уменьшается содержание органического фосфора и азота);

5) повреждаются мембранные компоненты протоплазмы и повышается проницаемость;

6) снижается содержание суммарной РНК, общего и белкового азота;

7) соотношение между синтезом и гидролизом сдвигается в сторону гидролиза, увеличивается активность гидролитических ферментов (в частности, рибонуклеазы);

8) повреждаются наиболее чувствительные к засухе генеративные органы, что ведет к неполному плодоношению.

Развитие и выживание растений в условиях засухи в значительной степени зависит от обеспеченности клеток водой. Действие засухи в первую очередь приводит к уменьшению в растениях свободной воды. Растение не может извлекать воду из почвы, если водный потенциал клеток корня $\Psi_{кл}$ выше водного потенциала окружающей среды - почвы ($\Psi_{ср}$). Для того чтобы вода передвигалась из почвы в клетки корня, $\Psi_{кл}$ должен быть доведен до более низкого уровня, чем $\Psi_{ср}$.

Различие свойств свободной и связанной (осмотически связанной, коллоидно связанной) воды определяет разное их значение в жизни растений. Уровень свободной воды обуславливает интенсивность физиологических процессов, связанной – устойчивость растений к неблагоприятным условиям среды.

Значительное снижение содержания свободной воды в условиях атмосферной или почвенной засухи приводит к нарушениям физиологических процессов и в конечном счете – к повреждению растений.

Некоторые растения высокочувствительны к водному дефициту и завядают (теряют тургор), когда $\Psi_{ср}$ становится слишком низким. Другие могут переносить засуху или высокие концентрации соли в почвенном растворе без очевидной потери тургора. Клетки засухоустойчивых и солеустойчивых растений способны снижать свой водный по-

тенциал за счет повышения внутриклеточного осмотического давления, в этом заключается явление осморегуляции (рис 26).

Известно, что количество связанной воды у ксерофитов значительно выше, чем у мезофитов. Одним из показателей повышенной засухоустойчивости у мезофитных сельскохозяйственных растений и плодовых культур является высокое содержание связанной воды.

Содержание доступной воды в почве определяется таким показателем как влажность устойчивого завядания, а максимальное содержание – полевой влагоемкостью. В среднем легкодоступная для растений влага удерживается в почве силой до 0,5 МПа (5 атм), среднедоступная – до 1,0–1,2 МПа, а труднодоступная – до 2,5–3,0 МПа.

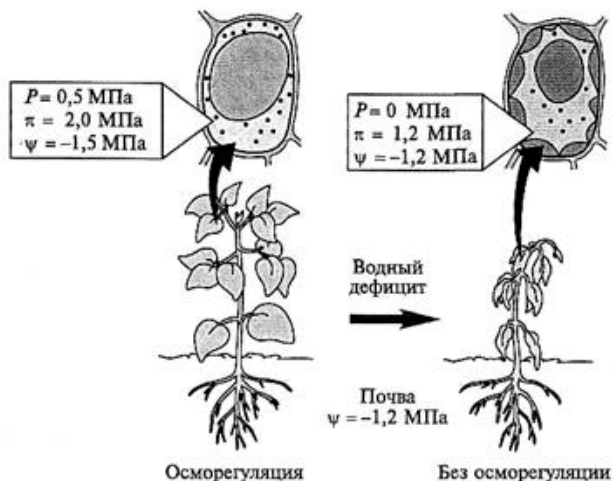


Рис. 26. Изменение осмотических показателей клетки при осморегуляции и без нее. Обозначения на рисунке: π – осмотическое давление; Ψ – водный потенциал; P – тургорное давление.

Оценить необходимость полива можно по величине осмотического давления клеточного сока. Повышение этого показателя является критерием обезвоживания растений и необходимости полива.

2.1.1. Изменение осмотического давления растительной клетки при недостатке воды

Сформировавшиеся растительные клетки имеют большую вакуоль, содержащую водный раствор различных органических и минеральных веществ. От их концентрации и степени диссоциации молекул зависит осмотическое давление клеточного сока. Именно этот показатель во многом определяет поступление воды в растительную клетку. Осмотическое давление отличается у разных растений. У древесных пород оно выше, чем у кустарников, а у кустарников выше, чем у травянистых растений. Разные экологические группы различаются по величине осмотического давления. У растений пустынь осмотическое давление больше, чем у степных растений. У степных – больше, чем у луговых. Еще меньше осмотическое давление у растений болотных и водных местообитаний. У светолюбивых растений осмотическое давление больше, чем у теневыносливых.

Растение может регулировать величину осмотического давления, например, изменяя интенсивность поглощения минеральных веществ из почвы.

Однако многие неорганические ионы, такие, например, как Na^+ и Cl^- , в высоких концентрациях токсичны, поэтому не могут быть использованы растительной клеткой в регуляции осмотического давления цитоплазмы. В то же время совместимые с биополимерами осмолиты (рис. 27) могут аккумулироваться в цитоплазме до концентраций

в несколько сот микромоль/г без видимых токсических эффектов. Поэтому именно осмолиты, а не неорганические ионы клетка использует для регуляции осмотического давления цитоплазмы.

Для регуляции осмотического давления возможно ферментативное превращение сложных нерастворимых веществ в растворимые: крахмала в сахара, белков в аминокислоты, что приводит к возрастанию концентрации клеточного сока и повышению осмотического давления. Это приводит к увеличению водного потенциала клетки (сосущей силы). При нормальном атмосферном давлении водный потенциал раствора определяется его осмотическим давлением:

$$\Psi \text{ раствора} = - P_{\text{осм}} \text{ раствора.}$$

Величина осмотического давления прямо пропорциональна молярной концентрации осмотически активных веществ в растворе (то есть числу частиц (молекул, ионов) в единицы объема) и абсолютной температуре.

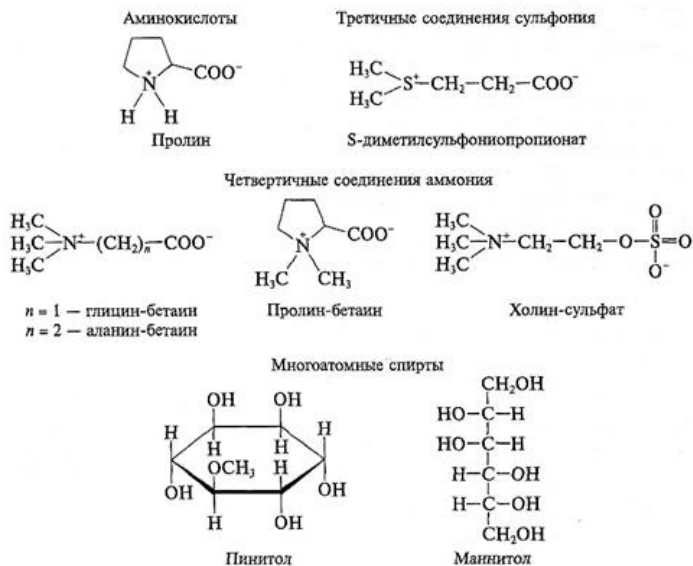


Рис. 27. Химические структуры некоторых наиболее распространенных осмолитов.

Благодаря работам Пфеффера и Вант-Гоффа величину осмотического давления можно рассчитать.

Вант-Гофф установил, что осмотическое давление (P) разбавленных растворов подчиняется газовым законам:

$$P = R * C * T * i, \text{ атм, где}$$

R – газовая постоянная (0,0821 л · атм/моль К или 8,31 Дж/моль К);

T – абсолютная температура в К ($273^\circ + t$ °С комнатная);

C – изотоническая концентрация в молях;

i – изотонический коэффициент Вант-Гоффа, характеризующий ионизацию растворов, который зависит от

степени диссоциации на которые диссоциирует молекулы и от числа ионов.

Изотонический коэффициент можно рассчитать:

$$i = 1 + \alpha(n-1), \text{ где}$$

n – количество ионов, на которые диссоциирует вещество;

α – степень диссоциации.

Изотонический коэффициент зависит от химических характеристик вещества и условий среды. Для неэлектролитов (напр., сахара) $i = 1$. Для растворов NaCl с разной концентрацией изотонические коэффициенты приведены в табл. 12. Для некоторых других солей приведены в прил. 1.

Таблица 12

Изотонические коэффициенты растворов хлорида натрия разной концентрации при 25 °С.

Концентрация NaCl, М	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6
i	1,62	1,63	1,64	1,66	1,68
Концентрация NaCl, М	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
i	1,70	1,73	1,75	1,78	1,83

Осмотическое давление (как и водный потенциал) может измеряться в атмосферах, Паскалях или барах (1 атм = 1,01 бар = 0,1МПа). Для пересчета осмотического давления из атм в МПа необходимо разделить полученное значение на 9,87 (1 МПа = 9,87 атм = 10 бар).

Величина осмотического давления клеточного сока характеризует устойчивость растений к почвенной засухе. Повышение этого показателя является критерием обезвоживания растений и необходимости полива.

1. Сравнение осмотического давления клеток, определенного методом плазмолиза

При определении осмотического давления клеточного сока растительной клетки плазмолитическим методом критерием служит начинающийся плазмолиз (тургорного противодействия – $T_{\text{кл}}$ – нет) в условиях динамического равновесия:

$$S_{\text{кл}} = S_{\text{р-ра}};$$
$$\text{а } S_{\text{кл}} = P_{\text{кл}} - T_{\text{кл}}$$

если $T_{\text{кл}} = 0, S_{\text{кл}} = P_{\text{кл}} \Rightarrow S_{\text{р-ра}} = P_{\text{р-ра}} \Rightarrow P_{\text{кл}} = P_{\text{р-ра}}$

Данный метод основан на поиске таких пограничных концентраций наружного раствора, один из которых называют начальной уголкой плазмолиз, а следующий (менее концентрированный) не вызывает плазмолиза. Концентрация *изотонического раствора* (раствор, осмотическое давление которого равно осмотическому давлению клеточного сока), с известной долей погрешности, равна среднему арифметическому между концентрациями этих пограничных растворов. Но при этом надо помнить, что нельзя делать заключение о наличии плазмолиза на основании наблюдения нескольких клеток. Вследствие больших индивидуальных отклонений осмотических свойств клеток, необходимо под микроскопом рассмотреть несколько полей зрения.

Цель работы: Определить осмотическое давление клеток листьев (наружных и внутренних) луковицы лука.

Объект: Лук обыкновенный (луковица).

Ход работы:

Распределить в подгруппе разные слои в луковиче, с которой будет проведен эксперимент. Для сравнения понадобится как минимум 2 слоя.

1. В подписанных стеклянных бюксах налить по 10 мл 0,9; 0,8; 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 М раствора сахарозы или NaCl, приготовленных путем разбавления исходного 1 М раствора дистиллированной водой, отмеривая нужные объемы раствора и воды пипетками (табл. 13). Растворы очень тщательно перемешать. Бюксы все время держать закрытыми, чтобы предотвратить испарение. Поставить их в ряд по убывающей концентрации растворов.

Таблица 13

Приготовление растворов для эксперимента

Количество мл на 10 мл раствора	Концентрация растворов плазмолитика, М								
	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Дистиллированной воды	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 М раствора сахарозы или 1М раствора NaCl	9	8	7	6	5	4	3	2	1

2. При помощи лезвия бритвы приготовить не менее 27 шт. тонких срезов нижнего эпидермиса чешуи лука из средней части. Если используется неокрашенный сорт лука, то окрасить срезы нейтральным красным (см. прил. 1).

3. Затем сразу же поместить срезы по 3 шт. в каждый из бюксов с растворами, начиная с высокой концентрации. При этом необходимо проследить, чтобы срезы не плавали

на поверхности, а были погружены в растворы (их следует «утопить» при помощи препаровальной иглы). Записать время начала опыта. Необходимым условием является одинаковая продолжительность нахождения срезов в растворах.

4. Через 20-30 мин. после погружения последовательно, начиная с самой высокой концентрации, срезы перевести на предметное стекло в капли соответствующих растворов, то есть из того же бюкса, где находится каждый срез, и, накрыв покровным стеклом, исследовать под микроскопом при малом увеличении.

Внимание! Стекланную палочку, которой наносится капля раствора на предметное стекло, после каждого плазмолитика необходимо ополаскивать водой и тщательно вытирать фильтровальной бумагой.

5. Определить степень и форму плазмоллиза клеток исследуемой ткани в каждом растворе, обязательно посмотрев под микроскопом все клетки срезов. Результаты зарисовать в табл. 14. Найти два пограничных раствора, в одном из которых еще нет плазмоллиза, а в следующем уже наблюдается начальный (уголковый) плазмоллиз не менее чем у 50% клеток среза.

Таблица 14

Определение изотонической концентрации в клетках лука

	Концентрация растворов плазмолитика, М								
	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Схематический рисунок характерной клетки									
Изотоническая концентрация, М									

6. Найти изотоническую концентрацию как среднее арифметическое между концентрациями этих двух растворов. Зная изотоническую концентрацию наружного раствора, рассчитать величину потенциального осмотического давления (P) по формуле Вант-Гоффа (см. выше).

7. Рассчитанное для разных слоев лука осмотическое давление внести в табл. 15. Сравнить результаты и сделать выводы.

Таблица 15

Значения осмотического давления в разных слоях луковицы

	Слой луковицы (начиная с наружного)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$P_{осм}$									

Вопросы:

1. Дайте определение плазмолиза. 2. Как отличается осмотическое давление клеточного сока и гипотонического раствора? 3. Какие осмотические характеристики имеет клетка в состоянии плазмолиза и тургора? 4. Что можно пронаблюдать при помещении растительной клетки в изотонический раствор (рассмотрите два варианта).

Реактивы: сахароза или натрия хлорид, дистиллированная вода, нейтральный красный.

Материалы и оборудование: луковица; бюксы; пинцеты, лезвия; пипетки; фильтровальная бумага; препаровальные иглы; термометр; часы.

2. Определение сосущей силы клеток по Уршпрунгу

Водообмен между клеткой и окружающей средой определяется соотношением сосущей силы клетки и осмотическим давлением наружного раствора. Поглощение или отдача воды клетками сопровождается изменением как их размеров и веса, так и концентрации окружающего раствора. При погружении кусочка ткани растения в раствор с большим осмотическим давлением вода из клеток поступает в раствор и размеры кусочка уменьшаются ($T_{кл}=0$, следовательно, $S = P_{осм}$). Если сосущая сила клеток выше, чем $P_{осм}$ окружающего раствора, клетки поглощают воду и кусочек ткани увеличивается. При равенстве сосущей силы ткани и $P_{осм}$ окружающего раствора между выходом и поступлением воды в клетку устанавливается равновесие и размеры кусочка ткани не изменяются.

Метод Уршпрунга пригоден, в первую очередь, для крупных паренхиматозных органов со слабо развитыми механическими тканями (клубней, корнеплодов). Достоинство данного метода – простота и возможность непосредственно наблюдать за изменениями тургора в зависимости от степени насыщения клеток водой. Метод может быть использован для определения изменения состояния плодово-овощной продукции в процессе хранения.

Задача настоящей работы сводится к тому, чтобы из серии растворов найти такой, осмотическое давление которого равнялась бы сосущей силе клеток ткани. Зная, что $S_{кл.} = P_{осм}$ раствора, находим $P_{осм}$ раствора. Осмотическое давление раствора легко рассчитать, зная его молярную концентрацию.

Цель работы: Определить осмотическое давление клеток корнеплодов (клубней) с разной водообеспеченностью.

Объект: Корнеплоды моркови или свеклы, клубни картофеля после хранения в разных условиях.

Ход работы:

Распределить в группе корнеплоды, хранившиеся в разных условиях.

1. Подготовить пробирки (бюксы или чашки Петри) с растворами сахарозы указанной молярности (табл. 16) на лабораторный стол.

Таблица 16

Изменения длины брусочков в эксперименте

	Концентрация растворов плазмолитика, М								
	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Исходная длина брусочка									
Средняя длина брусочка после эксперимента									
Изотоническая концентрация, М									
Сосущая сила									

2. Вырезать из клубня или корнеплода (поперек продольной оси органа) пластинку толщиной 3-4 мм в форме прямоугольника размером 30х40 мм. С помощью лезвия и линейки разрезать ее на ряд одинаковых полосок величиной 3х40мм (нарезать полоски следует быстро, не допуская подвядания). Излишки клеточного сока, вытекающие при разрезании ткани, удалить фильтровальной бумагой.

3. Погрузить по 3 полоски в растворы сахарозы (погружение должно быть полным). Через 30 мин извлечь полоски из растворов и измерить. Рассчитать среднее и записать в табл. 16.

4. Определить изотоническую концентрацию и рассчитать сосущую силу клеток.

5. Внести в табл. 17 данные по сосущей силе клеток корнеплодов, хранившимся в разных условиях, сравнить полученные результаты и сделать выводы.

Таблица 17

Сосущая сила клеток исследуемых объектов

№ п/п	Объект	Условия хранения	Сосущая сила
1			
2			
3			
4			

Вопросы:

1. Что такое сосущая сила клетки и от каких показателей она зависит? 2. Что произойдет с брусочком корнеплода при помещении его в гипертонический раствор? 3. Как изменится сосущая сила плодоовощной продукции при хранении? Ответ поясните.

Реактивы: сахароза, дистиллированная вода.

Материалы и оборудование: корнеплоды моркови или свеклы, клубни картофеля после хранения в разных условиях; пробирки (бюксы или чашки Петри); лезвие; линейки; фильтровальная бумага.

3. Определение засухоустойчивости растений по изменению ростовых процессов

К лабораторным методам изучения засухоустойчивости относится проверка способности растений выносить недостаточное водоснабжение на ранних этапах онтогенеза. Для этого определяют количество проросших семян на растворах сахарозы с высоким осмотическим давлением, чем создают искусственные условия физиологической сухости, позволяющие определить относительную засухоустойчивость растений.

Цель работы: определить относительную засухоустойчивость растений.

Объект: семена различных сельскохозяйственных культур (пшеница, рожь, ячмень, горох, фасоль, капуста, свекла и т.д.) (каждая пара студентов работает с одним определенным видом растения).

Ход работы:

1. В пять чашек Петри поместить кружки фильтровальной бумаги, предварительно простерилизованные в термостате при 150 °С в течение 1 часа.

В чашки налить по 10 мл растворов $C_{12}H_{22}O_{11}$ разной концентрации в 3-х-кратной повторности по схеме:

1-й вариант – 2,0 М раствор сахарозы;

2-й – 1,0 М раствор сахарозы;

3-й – 0,5 М раствор сахарозы;

4-й 0,25 М раствор сахарозы;

5-й вариант – дистиллированная вода.

2. В каждую чашку поместить по 10-25 одинаковых неповрежденных семян, раскладывая их равномерно по поверхности фильтровальной бумаги, закрыть крышка-

ми и оставить в темноте (условия прорастания для семян конкретных растений уточнить в прил. 1).

3. По окончании проращивания в каждом варианте определить среднее число и процент проросших семян (можно дополнительно использовать показатели энергии прорастания, сроки уточнить по прил. 1). Результаты опытов внести в таблицу 18. Рассчитать среднее значение по вариантам для каждого растения и внести в сводную табл. 19.

Таблица 18

Число проросших семян в разных вариантах опыта

Вариант опыта	Число проросших семян, %			
	1-ое повторение	2-ое повторение	3-е повторение	среднее
1				
2				
3				
4				
5				

4. Вычислить осмотический потенциал растворов сахарозы по формуле:

$$\Psi = - R \cdot C \cdot T \cdot i, \text{ где}$$

Ψ – осмотический потенциал, атм; R – универсальная газовая постоянная (0,0821 л·атм/(град · моль)); C – концентрация изотонического раствора, моль/л; T – абсолютная температура по Кельвину ($273^\circ +$ комнатная температура); i – изотонический коэффициент Вант-Гоффа.

5. По результатам исследований сделайте выводы о засухоустойчивости различных растений.

Вопросы:

1. Что такое почвенная и атмосферная засухи?
2. Охарактеризуйте понятие «физиологическая сухость».
3. Какие адаптации к обезвоживанию есть у растений на клеточном уровне?
4. Что такое полуденный дефицит и чем он связан?

Таблица 19

Относительная засухоустойчивость исследуемых растений

Вариант опыта	Концентрация раствора $C_{12}H_{22}O_{11}$, моль/л	Осмотический потенциал раствора $C_{12}H_{22}O_{11}$, атм	Среднее количество проросших семян, штук	Относительная засухоустойчивость растения
Название растения				
1				
2				
3				
4				
5				
Название растения				
1				
2				
3				
4				
5				

Реактивы: 2,0 М раствор сахарозы, дистиллированная вода, раствор формалина (1 мл на 300 мл воды) или другого антисептика для стерилизации семян.

Материалы и оборудование: семена пшеницы, ржи, ячменя, тритикале, кукурузы, гороха, люпина, огурца, томата; чашки Петри; стеклянные пипетки на 10 мл; химические пробирки; фильтровальная бумага.

2.1.2. Изменение интенсивности транспирации

Водный баланс растения определяется соотношением между поглощением и потерями воды. Вода поступает в растение и передвигается по нему благодаря работе нижнего (корневое давление) и верхнего (транспирация) концевых двигателей.

Транспирацией – называется физиологический процесс испарения воды с поверхности листа и других наземных органов растений. Так как основную роль в испарении воды растениями играют устьица, то интенсивность транспирации листа зависит от их количества и степени их открытия, а также водоудерживающей силы цитоплазмы клеток. Кутикулярная транспирация зависит и от толщины слоя кутикулы. То есть транспирация с одной стороны, является регулируемым процессом, а, с другой стороны, зависит от анатомо-морфологических характеристик растения.

1. Сравнение интенсивности транспирации верхней и нижней стороны листа разных видов растений (хлоркобальтовый метод Шталя)

Очень простой и доступный метод кобальтовой пробы основан на изменении цвета фильтровальной бумаги, пропитанной хлоридом кобальта, при поглощении ею паров воды, испаряемых поверхностью листа растения. По времени, необходимому для перехода окраски кобальтовой бумаги из голубой (цвет сухого хлорида кобальта)

в розовую (цвет обводнённого хлорида кобальта), судят об интенсивности транспирации растений. Но при этом получают лишь сравнительные данные, так как данный метод не позволяет определить абсолютные величины интенсивности транспирации.

Цель работы: Сравнить количество устьиц и интенсивность транспирации верхней и нижней стороны листа разных видов растений.

Объект: Любые комнатные растения с плоской формой листовой пластинки: бегония, бальзамин Валлера, колеус гибридный, пеларгония зональная, сциндапус расписной, традесканция кукурузолистная, хлорофитум хохлатый и др.

Ход работы:

1. Взять из эксикатора две стеклянные пластинки с прикрепленными к ним хлоркобальтовыми бумажками. До бумаги нельзя дотрагиваться пальцами. Осторожно слегка подсушить хлоркобальтовую бумагу над электроплиткой до ярко-голубого цвета и, если пластинки не горячие, быстро зажать свежесорванный лист (вместе с черешком) или лист непосредственно на растении между хлоркобальтовыми кружками. Скрепить пластинки и отметить по часам время начала опыта

2. Обновить срез черешка под водой, поставить лист в стаканчик с отстоявшейся водой, создав таким образом более или менее нормальные условия для транспирации.

3. Установить стаканчик с водой так, чтобы можно было укрепить этот лист, зажатый между стеклянными пластинками, для устойчивости в лапке штатива.

4. Отметить за какое время полностью порозовеет бумага у верхней и нижней сторон листа. По скорости порозовения определить, с какой стороны листа испарение идёт быстрее.

5. Параллельно исследовать эпидермис верхней и нижней сторон листа данного растения. Для этого лезвием бритвы сделать надрез на поверхности листа и снять плёнку эпидермиса. Поместить её на предметное стекло в каплю воды, накрыть покровным стеклом и рассмотреть под микроскопом при малом увеличении.

6. Посчитать количество устьиц в трёх полях зрения и вычислить среднее их количество на 1 мм^2 для верхнего и нижнего эпидермиса листа. Результаты записать по форме (табл. 20).

7. Сделать выводы о состоянии устьиц, о причинах различной интенсивности испарения воды с верхней и нижней стороны листа данного вида растения.

8. Сделать вывод об отличиях транспирации сравниваемых растений и причинах данных отличий.

Вопросы:

1. Интенсивность какого вида транспирации позволяет определить данный метод? 2. В чем могут быть причины разной интенсивности транспирации верхней и нижней сторон листа одного растения? 3. В чем могут быть причины отличий интенсивности транспирации разных видов растений?

Таблица 20

**Результаты эксперимента по определению интенсивности
транспирации листьев**

Сторона листа	Продолжительность наблюдения		Время, за которое порозовела бумага, мин.	Число устьиц в поле зрения микроскопа ($s=0,723 \text{ мм}^2$)				Среднее количество устьиц на 1 мм^2 , шт
	Начало опыта	Конец опыт		1	2	3	среднее	
Растение 1:								
верхн.								
нижн.								
Растение 2:								

Реактивы: дистиллированная вода.

Материалы и оборудование: эксикатор со стеклянными пластинками, к которым липкой лентой прикреплены хлоркобальтовые кружки (прил. 1); электроплитка; две круглые резинки; микроскопы; предметные и покровные стёкла; пинцеты; стаканчики на 150-200 мл с отстоявшейся водой; штатив с лапкой; лезвие бритвы: препаровальные иглы; часы; стеклянные палочки; колба с водой.

2. Определение интенсивности транспирации у срезанных листьев разных экологических групп

Интенсивность транспирации (ИТ) – количество воды в г., испарённое с единицы листовой поверхности (м^2) в единицу времени (1 час).

Основным методом определения ИТ является весовой (по Л. А. Иванову) метод, основанный на учёте потери воды при испарении. Этим методом можно выявить транспирацию целого растения или отдельных его частей. Но работа с целым укоренённым растением, растущим в естественных условиях, или с растением больших размеров представляет значительные трудности, поэтому чаще пользуются срезанными побегами и листьями. Данный метод основан на учёте изменений массы срезанного транспирирующего листа за короткие промежутки времени. Как правило, ИТ начиная с первой минуты после срезания и окончания четвёртой (за трёхминутный интервал), равна интенсивности транспирации неповреждённого растения, что даёт возможность наблюдать транспирацию практически при том же состоянии насыщения листа водой, в каком он находился на растении. Но потом ИТ всё-таки изменяется, вследствие нарушения непрерывности натянутых водных нитей в сосудах ксилемы, и это изменение будет тем больше, чем суше почва и воздух. При более длительной экспозиции уменьшается содержание воды в лист (лист начинает завядать), увеличивается водоудерживающая сила клеток, и снижение ИТ становится значительным по сравнению с той, что была до срезания листа. Поэтому интервал между взвешиваниями не должен превышать 5 минут.

Этот показатель характеризует способность растения регулировать транспирацию и колеблется обычно в пределах 0,1-0,5, иногда поднимаясь до 2 г/м²·час, и, наоборот, опускаясь у некоторых хорошо защищённый от потери воды листьев до 0,01 и ниже.

Относительная транспирация (ОТ) – отношение ИТ к интенсивности испарения со свободной водной поверхности при тех же условиях.

Цель работы: Сравнить интенсивность транспирации листьев:

- ксерофитов и мезофитов;
- верхних и нижних ярусов одного и того же растения;
- при разных условиях внешней среды
 - высокая температура,
 - ветер,
 - яркий свет,
 - рассеянный свет,
 - и т. д.

Объект: Листья разных видов растений.

Каждая пара студентов работает со своим растением и вариантом опыта. Растения зебрины висячей или другого мезофита (4 горшка) и традесканции силламонтана или другого ксерофита с сильно опушёнными листьями (3-4 горшка).

Чтобы вызывать открывание устьиц, хорошо политые растения перед опытом в течение 1,5-2 часов освещать электролампой. Для эксперимента можно также использовать десятидневные проростки овса или пшеницы, трёхдневные растения подсолнечника (из расчёта по 10 шт. растений на рабочий стол) или другие виды комнатных растений с большими листьями.

Ход работы:

1. Начиная работу, около весов поставить горшок с опытным растением. Выбрать на трёх разных веточках листья одного яруса приблизительно одинакового размера.

2. Чашку Петри без крышки наполнить водой комнатной температуры и взвесить на технических весах. Отметить время.

3. Наколку для листьев и чашку Петри с водой поставить в одинаковые условия эксперимента.

4. Срезать лист и, взяв его пинцетом, взвесить на технических весах. Быстро поместить его на наколку, отметив время. Таким же образом взвесить остальные листья.

5. Через 3 или 5 минут после взвешивания первого листа повторно взвесить все листья в первоначальном порядке. Данные записать по форме (табл. 21).

Таблица 21

Интенсивность транспирации листьев

Условия опыта:										
Объект:										
Масса листьев, мг							Суммарная потеря воды тремя листьями, мг (а-в)	Время опыта, мин.	Суммарная площадь трёх листьев, см ²	Интенсивность транспирации E _г , г/м ² ·час
1	2	3	Суммарная трёх листьев - а	1	2	3				

6. Разница в массе листьев за время между первым и вторым взвешиванием показывает, сколько воды испарилось с поверхности листовых пластинок за этот период.

Все расчёты выполнить по суммарной массе трёх листьев каждого варианта.

7. Чтобы выполнить расчёты ИТ, нужно знать площадь листьев, взятых для опыта. При её определении можно использовать самый простой весовой метод, который основан на прямой пропорциональности между весом и площадью бумаги. Метод можно использовать, если бумага достаточно однородна.

Вырезать из бумаги квадрат площадью 100 см^2 ($10 \cdot 10 \text{ см}$) и взвесить его. На другой лист такой же бумаги положить исследуемы листья растения, тщательно обвести их контуры остро отточенным карандашом, вырезать по контуру и также взвесить (одновременно три контура). Составить пропорцию, если квадрат бумаги в 100 см^2 имеет массу A г, а кусочек бумаги, вырезанный по контуру листа, площадью s – B г, и найти искомую площадь листа:

$$s = \frac{100 \cdot B}{A}, \text{ см}^2$$

8. На основании полученных результатов рассчитать Интенсивность транспирации (E_T , $\text{г/м}^2 \cdot \text{час}$) по формуле:

$$E_T = \frac{10\,000 \cdot C \cdot 60}{t \cdot S \cdot 1000}$$

где C – убыль в массе листьев за время опыта, мг; S – площадь трёх листьев, см^2 ; t – продолжительность опыта, мин.

9. Параллельно определить испарение со свободной водной поверхности. Повторно через 30 мин. взвесить чашку Петри с водой и учесть количество воды, испарившееся с её поверхности. Между взвешиваниями сосуд

с водой должен находиться в тех же условиях, в которых учитывалась транспирация листьев. Результаты записать по форме (табл. 22).

Таблица 22

Интенсивность испарения с водной поверхности

Испарение с водной поверхности					
Масса чашка Петри с водой, г		Убыль в массе, г	Диаметр чашки Петри, см	Площадь испаряющей поверхности, см ²	Интенсивность испарения E _и , г/м ² ·час
В начале опыта	Через 30 минут				

10. Определив внутренний диаметр чашки Петри, вычислить её площадь по формуле:

$$S = \pi * r^2, \text{ см}^2$$

11. Рассчитать интенсивность испарения (E_и, г/м²·час) со свободной поверхности, пользуясь формулой:

$$E_{\text{и}} = \frac{10\,000 \cdot C \cdot 60}{t \cdot S}$$

C – убыль в массе за время опыта, г; s – площадь водной поверхности, см²; t – продолжительность опыта, мин.

12. Вычислить величину относительной транспирации (E_{от}):

$$E_{\text{от}} = E_{\text{т}} / E_{\text{и}}$$

Так как каждая пара работает в определённых условиях и с разными видами растений, в конце результаты опыта всей подгруппы свести в единую таблицу (табл. 23).

На основании сравнения полученных данных сделать вывод о зависимости интенсивности транспирации и относительной транспирации от условий освещения, температуры, ветра, возраста листьев, вида растений.

Вопросы:

1. Интенсивность какого вида транспирации позволяет определить данный метод? 2. Почему интервал между взвешиваниями не должен превышать 5 минут? 3. Охарактеризуйте явление краевой диффузии и ее роль для транспирации. 4. В чем причины разной интенсивности транспирации мезофитов и ксерофитов?

Материалы и оборудование: вентилятор; настольные лампы; электроплитка; ножницы; штатив для пробирок; препаровальные иглы, часы песочные на 3 и 5 минут, чашка Петри без крышки, бумага миллиметровая, карандаш простой, лезвие бритвы, стакан с водой комнатной температуры, горшок с растением, линейки, технические весы.

Таблица 23

Относительная транспирация в разных условиях среды

Условия опыта (вариант)	Интенсивность транспирации		Интенсивность испарения		Относительная транспирация, А/В
	г/м ² ·ч ас (А)	в % к контролю	г/м ² ·ча с (В)	в % к контролю	
Зебрина висячая (или другое мезофитное растение)					
Контроль (лаб. условия)		100		100	
Яркий свет					
Сухой ветер					
Высокая температура					
Традесканция силламонтана (с сильно опушёнными листьями) или другое ксерофитное растение					
Контроль (лаб. условия)		100		100	
Яркий свет					
Сухой ветер					
Высокая температура					

2.2. Устойчивость растений к низким температурам

На подавляющей территории нашей страны наиболее губительными для растений являются низкие температуры воздуха и почвы: низкие отрицательные температуры повреждают зимующие растения, низкие положительные температуры оказывают сильное неблагоприятное воздействие на ход физиологических процессов и формирование урожая теплолюбивых культур. В результате воздействия низких температур у растений развивается холодовой стресс (рис. 28).



Рис. 28. Развитие холодowego стресса у растений (по Чирковой, 2002).

Существенным этапом перехода от стрессовых к адапционным реакциям является изменение экспрессии генов, выражающееся в ингибировании активных генов, в норме контролирующих рост, развитие и фотосинтез. При этом активируется система генов контроля за устойчивостью: происходит синтез новых белков, специфических адаптогенов и стресс-протекторов. Завершается эта перестройка структурными изменениями в организме растения.

Устойчивость растений к низким температурам необходимо разделить на несколько блоков, так как механизмы адаптации у них отличаются. В целом можно выделить следующие варианты:

1. **Заморозкоустойчивость** – устойчивость к заморозкам, вызывающим замерзание растений.

2. **Зимостойкость** – устойчивость к неблагоприятным условиям перезимовки, включая и влияние низких температур (морозоустойчивость является частью зимостойкости).

3. **Холодоустойчивость** – устойчивость к пониженным положительным температурам и кратковременным заморозкам, не вызывающим замерзания растений.

4. **Морозоустойчивость** – способность растений переносить температуру ниже 0 °С, низкие отрицательные температуры [17, 19, 20].

В разные фазы онтогенеза растения изменяют свою устойчивость к низким температурам. К наиболее опасным относятся летние **заморозки** во время усиленного роста. Для плодовых и ягодных культур **заморозки** также опасны во время цветения и особенно в период образования завязей. В табл. 24 приведена устойчивость разных сельскохо-

зрелых культур к заморозкам в разные фазы развития. Очевидно, что повреждающее действие низких температур зависит от вида растения и фазы его развития. Основная причина повреждающего действия **низких положительных температур** на теплолюбивые растения – нарушение функционирования клеточных мембран из-за их «затвердевания», связанного с фазовыми переходами жирных кислот. Наиболее холодоустойчивы яровые пшеница, ячмень, овес. Теплолюбивые растения, погибающие при температуре ниже +10 °С: фасоль, рис, арбуз, дыня, тыква, огурцы и др.

Таблица 24

Устойчивость сельскохозяйственных культур к заморозкам в разные фазы развития (по Чирковой, 2002)

Культура	Начало повреждений и частичная гибель		
	всходы	цветение	созревание
Наиболее устойчивые к заморозкам			
Пшеница	-9...-10	-1...-2	-2...-4
Ячмень	-7...-8	-1...-2	-2...-4
Горох	-7...-8	-3	-3...-4
Устойчивые			
Вика яровая	-6...-7	-3	-2...-4
Бобы	-5...-6	-2...-3	-3
Подсолнечник	-5...-6	-2...-3	-2...-3
Сахарная свекла	-6...-7	-2...-3	-
Морковь	-6...-7	-	-
Среднеустойчивые			
Люпин желтый	-4...-5	-2...-3	-
Соя	-3...-4	-2	-2...-3
Малоустойчивые			
Кукуруза	-2...-3	-1...-2	-2...-3
Просо, сорго	-2...-3	-1...-2	-1...-2
Картофель	-2...-3	-1...-2	-
Неустойчивые			
Огурец	0...-1	0...-1	0...-1
Томат	0...-1	0...-1	0...-1
Гречиха	-1...-2	-1	-1,5...-2
Хлопчатник	-0,5...-1	-0,5...-1	-1
Рис	-0,5...-1	-0,5	-
Бахчевые	-0,5...-1	-0,5...-1	-0,5...-1

Различная реакция устойчивых и неустойчивых растений на низкие температуры связана с различиями в составе жирных кислот, входящих в мембранные фосфолипиды.

У холодостойких растений содержание ненасыщенных жирных кислот (линоленовой и линолевой) гораздо выше, чем у растений, чувствительных к холоду. Увеличение количества ненасыщенных жирных кислот в составе мембран катализируется десатуразами и приводит к снижению температуры фазового перехода мембранных липидов.

На подавляющей территории нашей страны наиболее губительными для растений являются **низкие отрицательные температуры** воздуха и почвы, они повреждают зимующие растения. Оценка устойчивости растений к такому экстремальному фактору, как мороз важна для селекционной и агрономической практики.

Морозоустойчивость

Под морозоустойчивостью понимают способность растений переносить без вреда кратковременные заморозки и длительные зимние морозы, т. е. температуры ниже 0°C. Повреждение растений морозами связано с замерзанием воды в межклетниках и обезвоживанием протоплазмы. При обезвоживании белки и другие макромолекулы, а также мембраны теряют водные чехлы своих гидратных оболочек, поэтому утрачивают структуру и не могут нормально функционировать. Нарушение структуры мембран приводит к утрате избирательной проницаемости и гибели клеток.

Не имея эволюционно сформированных приспособлений для защиты от действия отрицательных температур,

растения повышают свою морозоустойчивость, адаптируясь физиологическом, биохимическом и молекулярном уровнях. Механизмы устойчивости к действию отрицательных температур отсутствуют в оптимальных условиях роста и образуются лишь в ответ на действие стрессового фактора.

1. Накопление сахаров и других осмолитов, прежде всего пролина, обладающих осморегуляторным и стресс-протекторным действием.

2. Изменение состава мембранных липидов и увеличение текучести мембран.

3. Глубокое переохлаждение и постепенная дегидратация.

4. Ограничение роста внеклеточного льда и синтез антифризных белков (АФБ).

5. Синтез стрессорных белков холодового ответа [17, 19, 20].

Растения переносят условия зимы в различные периоды онтогенеза. У однолетних культур зимуют семена (яровые растения), раскустившиеся растения (озимые), у двулетних и многолетних – клубни, корнеплоды, луковицы, корневища, взрослые растения. Способность озимых, многолетних травянистых и древесных плодовых культур перезимовывать обуславливается их достаточно высокой морозоустойчивостью.

Главное значение имеет устойчивость, основанная на выносливости клеток растений, т. е. способности в процессе адаптации перестраивать метаболизм, проходить *закаливание*.

Физиологическая природа закаливания была раскрыта благодаря работам И. И. Гуманова и его учеников.

Способностью к закаливанию обладают не все растения – это наследуемое свойство. Растения южного происхождения не способны к закаливанию. Морозоустойчивые сорта отличаются от неморозоустойчивых способностью к закаливанию. Способность пройти процессы закаливания тесно связана с торможением ростовых процессов, с переходом растений в покоящееся состояние.

Туманов выделил у древесных растений **две фазы закаливания**.

Первая фаза закаливания начинается осенью, когда растения находятся еще в облиственном состоянии и активно фотосинтезируют. В этот период температура днем составляет около 10°C и ночью около 2°C. Примерно в течение месяца ткани накапливают большое количество сахаров, аминокислот, водорастворимых белков и других криопротекторов, снижается содержание воды, не связанной с химическими соединениями (свободной воды), повышается водоудерживающая способность клеток. В тканях древесных растений накапливается 7-10 % сахаров, озимых – до 20 %. Сахароза в растворенном состоянии снижает температуру замерзания и, следовательно, заметно уменьшает количество образовавшегося льда.

В клетках под воздействием холода синтезируются специальные стрессорные белки и ферменты – десатуразы, дегидрины, белки холодового шока. Они повышают стабильность мембран, тормозят рост кристаллов льда, способствуют повышению температуры органов, по сравнению с температурой окружающего воздуха. В конце первой фазы закаливания деревья уже могут выдерживать морозы до -12 °C.

Вторая фаза закаливания протекает при небольшой отрицательной температуре (до -5°C) после листопада и не требует света. В это время продолжается накопление сахаров, аминокислот, липидов.

Продолжительность второй фазы закаливания от 2 нед. до 1 мес. В это время происходит постепенный выход воды из клеток и цитоплазма приобретает более уплотненную структуру. У древесных культур может остаться только 8-10 % воды в клетке, остальная выходит в межклетники. В тканях озимых культур остается 30-40 % воды, но она переходит в связанное состояние, т. е. увеличивается количество труднозамерзаемой воды.

Закаливающей температурой считается та, которая еще не повреждает, но повышает устойчивость растений к более низкой.

Австрийский физиолог В. Лархер выделил **третью фазу закаливания**. Она протекает при температуре от -10 до -15°C . В конце этой фазы закаливания растения могут выдерживать сверхнизкую температуру (до -196°C).

Повышению морозоустойчивости способствует обработка семян микроэлементами цинком и молибденом, кратковременное предварительное выдерживание растений при низких температурах, предпосевная обработка фитогормонами (АБК) [7, 12, 16, 17, 19, 20].

1. Изучение влияния сахарозы на протоплазму при отрицательных температурах

При повреждении клетки теряют свойство полупроницаемости и вещества, находящиеся в клеточном соке, свободно выходят наружу. Степень повреждения клетки

коррелирует с количеством выделяющихся веществ, это легко поддается оценки, если клеточный сок окрашен антоцианом. В этом случае интенсивность окрашивания внешнего раствора служит показателем степени повреждения.

Цель работы: Изучить защитное действие сахарозы на мембраны цитоплазмы растительной клетки.

Объект: Свежие (тургесцентные) корнеплоды красной свеклы.

Ход работы:

1. При помощи пробочного сверла диаметром 10 мм и скальпеля (или ножа) вырезать из корнеплода свеклы необходимое для опыта число (по 5 на один вариант) высечек, диаметром 10 мм толщиной 2-3 мм.

2. Поместить высечки в кристаллизаторы и тщательно промыть их проточной водой до полного удаления сока, вытекшего из поврежденных клеток.

3. Перенести одинаковое количество высечек (по 5 шт.) в пронумерованные пробирки.

4. Налить в пробирки по 5 мл раствора в соответствии со схемой опыта – табл. 25 (состав смесей растворов сахарозы и глицерина можно менять в зависимости от объекта исследования). Опыт проводится в трехкратной повторности. Объем жидкости во всех пробирках должен быть одинаковым.

5. Приготовить в тазу охлаждающую смесь: к трем частям снега (или толченого льда), тщательно перемешивая совком, добавить одну часть поваренной соли. Утрамбовать. Температура смеси должна быть около -21°C .

6. Погрузить все пробирки на 15-20 мин в охлаждающую смесь.

7. Когда жидкость в пробирках полностью замерзнет, вынуть их и разморозить, поставив в стакан с водой комнатной температуры.

Таблица 25

Схема проведения опыта

Вариант опыта	Раствор
1	2М раствора сахарозы
2	1 М раствор сахарозы
	0,5 М раствор сахарозы
3	12%-ный раствор глицерина
4	12%-ный раствор глицерина и 2 М раствор сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл)
5	12%-ный раствор глицерина и 1 М раствор сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл)
6	12%-ный раствор глицерина и 0,5 М раствор сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл)
7	дистиллированная вода

8. После полного размораживания, содержимое пробирок тщательно перемешать и сравнить интенсивности окраски всех растворов (интенсивность окраски отметить количеством «+»). Результаты внести в табл. 26. Расположить пробирки в ряд по мере увеличения интенсивности окрашивания растворов.

Таблица 26

Изменение интенсивности окраски (степени повреждения)

Вариант опыта	Интенсивность окраски (признак повреждения)			
	1 повторность	2 повторность	3 повторность	среднее
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				

9. Установить связь между интенсивностью окрашивания растворов и составом смесей. Объяснить наблюдаемые различия между вариантами, сделать вывод об адаптационном механизме для биохимических реакций, обуславливающих морозоустойчивость растений.

2. Изучение действия сахарозы на белки цитоплазмы при замораживании

При действии экстремальных отрицательных температурах белки коагулируют. Выпадение хлопьевидного осадка белков из сока, отжатого из растительной ткани – показатель повреждения растительной клетки.

Цель работы: Изучить защитное действие сахарозы на белки при отрицательных температурах.

Объект: Клубни картофеля (листья капусты).

Ход работы:

1. Очищенный клубень картофеля (лист капусты) натереть на терке, перенести растительную массу на двойной слой марли и отжать сок в стакан. Дать отстояться крахмалу.

2. Надосадочную жидкость профильтровать в четыре пронумерованные пробирки приблизительно по 3 мл каждую.

3. В первую и четвертую пробирки добавить по 2 мл дистиллированной воды, во вторую – 2 мл 0,5 М раствора сахарозы, в третью – 2 мл 1 М раствора сахарозы. Перемешать содержимое пробирок. Объем жидкости во всех пробирках должен быть одинаковым.

4. Первые три пробирки поставить в охлаждающую смесь, а четвертую (контрольную) оставить при комнатной температуре.

5. Когда растворы полностью замерзнут (15-20 мин), перенести пробирки в стакан с водой комнатной температуры.

6. После полного оттаивания, содержимое пробирок не встряхивая, рассмотреть в проходящем свете. Определить, в каком случае наблюдается образование хлопьев коагулировавшего белка, а где белки остались состоянии золя. Определить относительное количество хлопьев (отметить количеством «+»), результаты опыта записать в табл. 27.

7. Сделать выводы о роли сахарозы в сохранении жизнеспособности клеток и растительных тканей при их замораживании.

Результаты коагуляции белка после замораживания

Объект, признак повреждения	Варианты опыта (пробирки)			
	Температура -21*С			Комнатная температура
	Сахароза		Дистиллированная вода	
	0.5 М	1 М		
Картофель/Капуста (интенсивность выпадения осадка)				

Вопросы:

1. В чём заключается губительное действие мороза на растения? 2. Изменение таких свойств протоплазмы можно использовать в качестве показателей повреждения? 3. Каковы ответные реакции клеток на повреждающее действия мороза? 4. Что лежит в основе защитного действия сахара?

Реактивы: 0,5 М и 1 М растворы сахарозы, глицерин, дистиллированная вода, поваренная соль NaCl, снег или лед. Состав охлаждающих смесей см. в прил. 1.

Материалы и оборудование: А. Термометр, поднос, совок, тазы, кристаллизатор с солью. Б. Скальпели, нож, тарелка, восковой карандаш, штатив для пробирок, химический стакан объемом 250 мл с водой комнатной температуры, колба с водой, колбы на 100 мл с растворами сахарозы; а) объект – свекла: пробочное сверло диаметром 10 мм, пробирки, кристаллизатор; б) объект – картофель: марка, терка, стакан объемом на 250 мл, пробирки, фильтры.

2.3. Устойчивость к недостатку кислорода

Растения, это облигатные аэробы, используют O_2 в качестве конечного акцептора электронов в митохондриальной электрон-транспортной цепи. При нормальных аэробных условиях окисление 1 моля глюкозы в цикле Кребса приводит к образованию 30 молей АТФ. В отсутствие кислорода распад глюкозы ограничен реакциями гликолиза, при этом образуется лишь 2 моля АТФ (рис. 29).

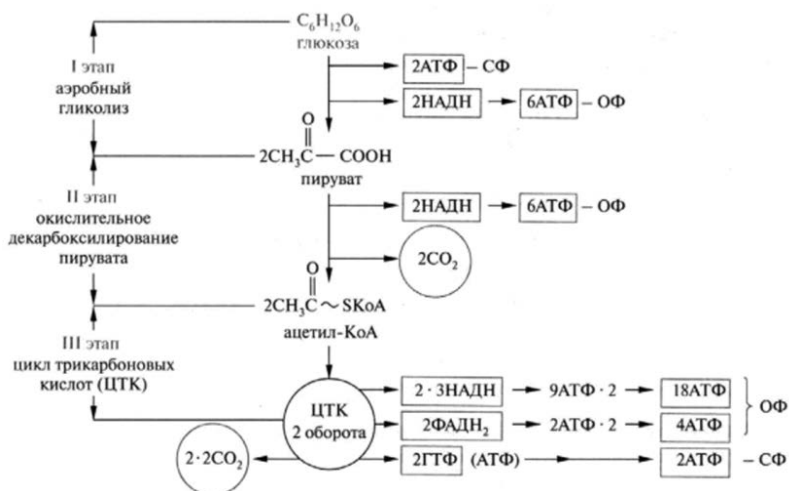


Рис. 29. Энергетика дыхания.

Снабжение кислородом корней зависит от содержания в почве воды, пористости почвы, температуры, густоты корней, а также присутствия в почве конкурентов – микроорганизмов аэробов. Концентрация кислорода в хорошо структурированной пористой почве составляет 20,6 %, что сопоставимо с его концентрацией в атмосфере. Концентрация кислорода в почве снижается чаще всего из-за избытка воды. За-

топление водой существенно снижает скорость кислородного обмена между почвой и воздухом. Чтобы выжить в условиях дефицита кислорода, растения должны не только поддерживать концентрацию АТФ в клетках, но и регенерировать НАД⁺ и НАДФ⁺, поскольку при кислородной недостаточности равновесия НАД⁺/НАДН и НАДФ⁺/НАДФН смещаются в сторону восстановленных форм (см. прил. 2). Необходимо устранять также накапливающиеся в клетках токсические соединения.

У растений, которые при недостатке кислорода замедляют метаболизм и переходят в состояние покоя, например, аир, нет специфических адаптаций к гипоксии, так как это вариант избегания неблагоприятного фактора. Растения адаптирующиеся, то есть способные выдерживать временное затопление водой, подразделяют на несколько групп (табл. 28).

Таблица 28

Устойчивость растений к недостатку кислорода

Группы растений по устойчивости к недостатку кислорода		
1. Чувствительные к O ₂ -дефициту	2. Резистентные к O ₂ -дефициту	3. Устойчивые к кислородному дефициту
Растения незатопляемых территорий		растения водных и влажных (заболоченных) мест обитания
soя, горох, томаты	арабидопсис, овес, картофель, пшеница, кукуруза	рис, кубышка, стрелолист и валлиснерия

У растений второй и третьей групп в процессе эволюции сформировались биохимические механизмы, а также разнообразные морфологические и анатомические приспособления, позволяющие противостоять дефициту кислорода в среде. При этом растения второй группы только незначительное время могут существовать без кислорода, за счет анаэробных процессов. У чувствительных растений (первая группа), как и у резистентных (вторая группа), скорость гликолиза в ответ на затопление возрастает, что приводит к закислению цитоплазмы. В условиях полного отсутствия кислорода у растений первой группы аэренхима не образуется, они способны выдержать затопление на протяжении не более суток.

Чтобы выжить в условиях дефицита кислорода, растения регенерируют НАД⁺ и НАДФ⁺ с образованием молочной кислоты (рис. 30). Это приводит к нарушению всех метаболических процессов, в итоге клетки корневой меристемы отмирают.

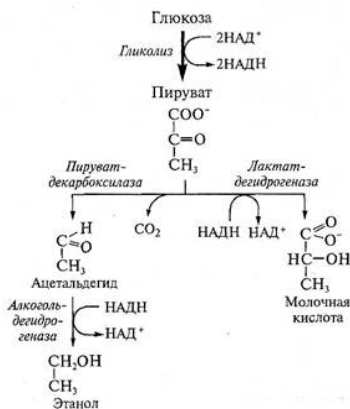


Рис. 30. Образование этанола и молочной кислоты из конечного продукта гликолиза – пировиноградной кислоты в условиях кислородного дефицита.

При этом образование обоих продуктов сопряжено с регенерацией НАД⁺, однако образование этанола не приводит к изменениям рН цитозоля, тогда как образование молочной кислоты вызывает ацидоз. Поэтому 3 группа растений, в отличие от второй, может переключаться на выработку спирта и избегать закисления.

У растений второй и третьей группы низкие концентрации кислорода в среде (0,003 — 0,012 МПа), т. е. условия гипоксии стимулируют синтез этилена. Этот гормон индуцирует образование аэренхимы в коре корня. Аноксия по сравнению с гипоксией в меньшей степени способствует образованию аэренхимы, так как для синтеза этилена требуется кислород.

Поддержание аэробного метаболизма в корнях при затоплении за счет формирования O₂ – проводящих путей, наряду с переходом на анаэробный метаболизм, можно рассматривать как важнейшую физиологическую стратегию устойчивости растений к кислородному дефициту [17, 19, 20].

Исследования Т. В. Чирковой (2002) показали, что у растений, произрастающих в условиях переувлажнения, устойчивость к гипоксии и аноксии достигается широким комплексом приспособлений (рис. 31).

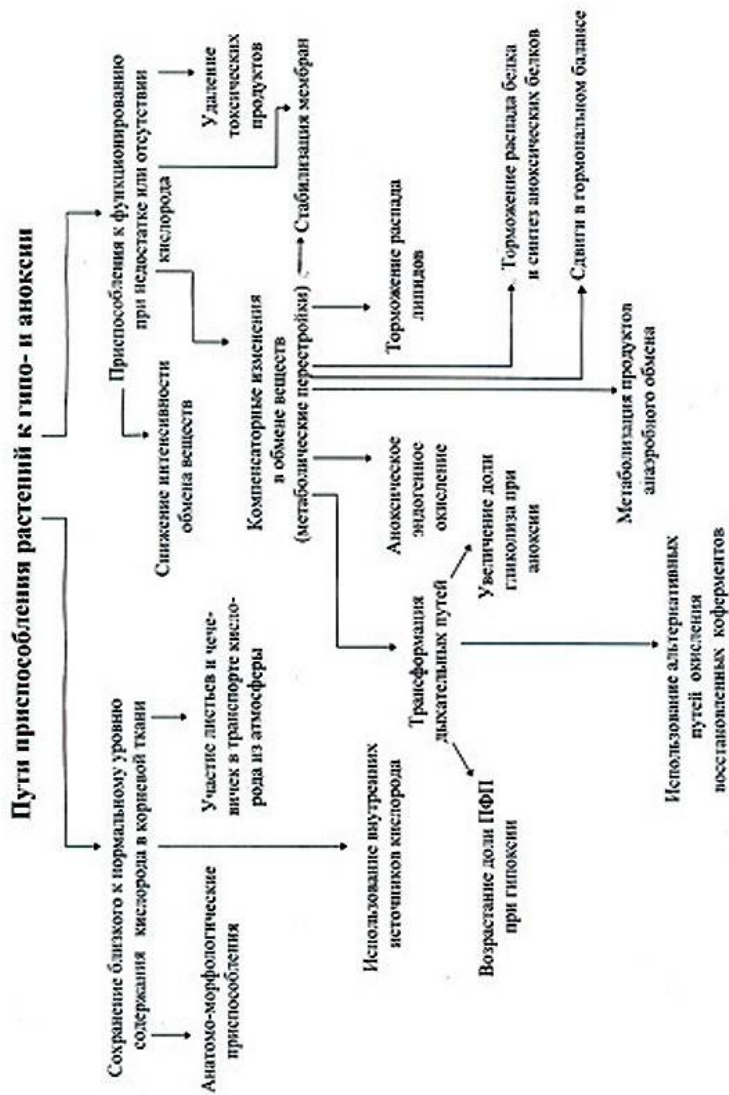


Рис. 31. Схема путей приспособления растений к гипо- и аноксии (по Чирковой, 2002).

2.4. Жароустойчивость растений

Термический фактор является очень важным для всех физиологических процессов растительного организма, так как их основе лежит биохимические превращения веществ. Растения – типичные пойкилотерные организмы, то есть температура их тела целиком определяется температурой окружающей среды. Они способны существовать только в определенном, иногда довольно узком интервале температур.

Под жароустойчивостью растений понимают способность их переносить перегрев (для растений умеренного климата – температуру выше 35–40°C).

Известно, что повышение температуры выше оптимального уровня ведет к снижению скорости физиологических процессов, вплоть их остановки. Температура влияет на скорость диффузии и, как следствие на скорость химических реакций (прямое влияние). Кроме того, она вызывает изменение структуры белковых молекул (косвенное влияние). Это приводит к изменению активности ферментов, увеличению проницаемости мембран, нарушению гомеостаза, изменению взаимодействия между липидами, комплементарными цепями нуклеиновых кислот, нуклеиновыми кислотами и белками, гормонами и рецепторами. Денатурация белков и нарушения структуры мембран являются первыми звеньями повреждения клеток при высокой температуре [17, 19, 20].

Следует отметить, что жара очень часто сопровождается атмосферную и почвенную засуху и часто не представляется возможным выделить влияние каждого из этих факторов. Растения испытывают тепловой шок (ТШ) при про-

должительном воздействии высокой или действии очень высокой температуры (от +55 до +65° С) он задерживает рост и может вызывать гибель растений. Причина теплового шока при высоких температурах – потеря воды растительными тканями.

В защитных приспособлениях растений к высоким температурам использованы разные пути адаптации. Анатомо-морфологические черты, предотвращающие перегрев, в основном те же самые, что служат растению для ослабления прихода радиации к тканям наземных частей. Это густое опушение, придающее листьям светлую окраску и усиливающее их способность к отражению; блестящая поверхность; уменьшение поверхности, поглощающей радиацию, – вертикальное и меридиональное положение листьев; свертывание листовых пластинок у злаков; общая редукция листовой поверхности.

Весьма действенной физиологической адаптацией к перегреву служит усиленная транспирация. Важна высокая термостабильность ключевых ферментов фотосинтеза и дыхания, а также поддержание на определенном уровне текучести мембран благодаря повышению содержания насыщенных жирных кислот в липидах.

Одним из важнейших элементов адаптации растений к перегреву является синтез белков теплового шока (БТШ). Они синтезируются при повышении температуры и существенно увеличивают устойчивость растений к перегреву. При температуре около 40°С синтез большинства белков и матричных РНК подавляется, но в то же время активируется синтез около 30–50 новых белков, которых и назвали белками теплового шока. Они обнаруживаются уже через

несколько минут после воздействия высокими температурами и идентифицируются в ядре, хлоропластах, митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме, цитоплазме. Установлено, что растения с нарушенным синтезом белков теплового шока теряют способность противостоять перегреву [9, 12, 17, 19, 20].

Гибель растений от перегрева в основном связана с изменениями структуры протоплазмы, которые происходят при температурах около 50°C. Но еще раньше у растения нарушается деятельность ферментов, резко усиливается физиологически обесцененное дыхание, усиливаются гидролитические процессы, снижается дыхательный коэффициент, происходит отравление протоплазмы накапливающимися вредными продуктами распада, например, аммиаком.

По жаростойкости различают ряд групп растений. Не жаростойкие виды повреждаются уже при 30–40°C. Это водоросли и подводные листостебельные растения, лишайники в набухшем состоянии и большинство не жестколистных сосудистых растений.

Жаровыносливые растения – эукариотические организмы солнечных и сухих местообитаний, как правило, с высокой способностью к закаливанию. Они переносят получасовое нагревание до 50 – 60 °С.

Жаростойкие виды – термофильные прокариоты (из фотоавтотрофов – цианобактерии). Они обладают особенно устойчивыми нуклеиновыми кислотами и белками. Некоторые из них переносят чрезвычайно высокие температуры (более 80 °С). Но среди высших растений термофилов нет [6, 9, 10, 12-17, 19-21].

Определение жаростойкости растений по степени повреждения тканей (по Ф. Ф. Майкову)

Жароустойчивость растений связана со способностью протоплазмы клеток противостоять воздействию повышенной температуры. Это свойство растений повышается с увеличением количества связанной воды, вязкости протоплазмы и количества белков, не свертывающихся при более высокой температуре. Кроме того, это зависит от отражательной способности листьев растений, интенсивности транспирации, движения листьев, и т. д., то есть от всего, что позволяет избежать перегрева.

При определенном уровне высоких температур, различном для растений происходит коагуляция белков, то есть разрываются мембраны, вследствие чего резко увеличивается их проницаемость, и кислый клеточный сок проникает в протоплазму, наступает общее отмирание клеток. При этом в хлоропластах под действием органических кислот ионы водорода вытесняют магний из молекул хлорофилла, превращая его в феофитин, который придает бурную окраску тканям листа, что служит критерием повреждения протоплазмы. Чем больше повреждены ткани, тем больше образуется пятен.

Один из наиболее простых и наглядных методов проверки жаростойкости растений основан на обработке кислотой листьев, подвергнутых действию высокой температуры, что приводит к феофитинизации повреждённых и мертвых клеток, тогда как неповрежденные клетки остаются зелеными. Степень повреждения тканей коррелирует со степенью их побурения.

Цели работы: Оценить и сравнить жаростойкость разных видов растений по степени повреждения тканей листьев при ступенчатом нагревании.

Объект: Листья зебрины висячей, традесканции зеленой, т. пестролистной, пеларгонии зональной, хлорофитума хохлатого, циссуса ромболистного, каланхоэ Дегремона и др. (каждая пара студентов работает с одним определенным видом растения).

Ход работы:

1. Перед занятием нагреть водяную баню до 40°C, в самом в начале занятия погрузить в нее пучки из 5 одинаковых листьев исследуемых растений, в течение 30 мин поддерживать температуру на уровне 40°C.

2. Через 30 мин взять первую пробу (по одному листу) каждого вида растений и перевести в 1-ю чашку Петри с холодной водой.

3. Быстро поднять температуру в водяной бане на 10°C. Через 10 мин достать второй лист и перевести его во 2-ю чашку Петри с холодной водой для охлаждения.

4. Так ступенчато повышая температуру воды на 5-10°C (температурный интервал уточнить по табл. 29), довести до 70-80°C. После 10-минутного выдерживания листьев при каждой температуре брать очередную пробу и переносить в холодную воду.

5. По мере охлаждения каждого листа (для этого достаточно 5 мин) лист пинцетом перенести в чашку с соляной кислотой.

6. Через 20 мин. посмотреть результаты опыта. Степень повреждения установить по интенсивности побурению тканей листьев, в то время живые листья или участки ткани остаются зелеными (у растений с кислым клеточным соком побурение может происходить без обработки соляной кислотой). Отсутствие побурения говорит об устойчивости к перегреву.

7. Оценить степень повреждения листьев. Слабое побурение (на 1/3) обозначить «+» (оценка жаростойкости 3 балла), побурение до 50% площади листа (1/2) – «++» (2 балла), побурение более 50% площади листа (2/3) – «+++» (1 балл) и полное побурение листа – «++++» (0 баллов). Отсутствие побурения – 4 балла. Суммировать степень побурению в баллах при всех заданных температурах. В конце занятия результаты всей подгруппы свести в единую таблицу на доске и в тетради (табл. 29).

Таблица 29

Оценка жаростойкости исследуемых растений

Вид растения	Степень повреждения листьев (+) и жаростойкость (баллы)						Жаростойкость (сумма баллов при всех температурах)
	Температура, °С						
	40	50	55	60	70	80	

8. Сделать выводы о степени жаростойкости исследованных растений, объяснив это анатомо-морфологическими особенностями.

Вопросы:

1. Какое влияние на физические процессы в растениях показывает перегрев? 2. Какие способы защиты определяют жаростойкость растений?

Реактивы: 0, 2 н раствора HCl.

Материалы и оборудование: Электроплитка, чайник с кипятком, банка с водой в холодильнике, водяная баня, термометр, пинцеты, фарфоровая кружка, подписанные чашки Петри, колба.

2.5. Солеустойчивость растений

Одним из экстремальных условий обитания растений является засоление. На земном шаре около 25 % почв содержат избыток солей (до нескольких процентов). Наиболее распространены в засоленных почвах сода (Na_2CO_3), глауберова соль (Na_2SO_4), поваренная соль (NaCl). Засоленные почвы имеют тенденцию к постоянному и существенному увеличению. Этому способствует и то, что в настоящее время встает острая необходимость использования земельных ресурсов в полупустынных и пустынных районах, где единственным источником поливной воды оказываются богатые солями грунтовые воды, озера и моря. Засоление почв занимает одно из первых мест среди стрессовых факторов, ограничивающих мировое производство продуктов питания.

Солеустойчивость – устойчивость к избытку растворимых солей в почве. Лишь очень приспособленные виды растений могут произрастать на сильнозасоленных почвах, солончаках и солонцах, а также по берегам морей и других соленых водоемов. Культурные растения и большинство древесных пород не приспособлены к условиям засоленных почв (табл. 30).

Растения делят на две основные группы по их отношению к засоленности почвы: **галофиты и гликофиты**.

Галофитами называются растения засоленных местобитаний, легко приспособляющиеся в процессе своего онтогенеза к высокому содержанию солей в почве

Гликофитами называются растения пресных местобитаний, обладающие сравнительно ограниченной способностью приспособляться к засолению.

Особенности обмена веществ растений в условиях засоления приведены на рис. 32.



Рис. 32. Особенности обмена веществ растений в условиях засоления (по Чирковой, 2002).

**Растения, произрастающие
при разной степени засоления [17]**

Засоление	Содержание солей, % от сухого веса почвы	Растения, произрастающие при данной степени засоления
Незначительное	0,1	Возможны все культуры, в том числе и кукуруза. Сказывается лишь на некоторых плодовых и овощных
Слабое	0,1–0,4	Все зерновые, кроме несолеустойчивой кукурузы, сорговые, просо, полевой горох, конские бобы, люцерна, вика
Среднее	0,4–0,6	Хлопчатник, ячмень, рожь, спаржа, полевица белая, тимфеевка, ежа сборная, донник, пшеница, овес на сено
Средне-сильное	0,6–0,8	Кормовая брюква, кормовая капуста, овсяница луговая, итальянский райграс, пырей нежный, сорговые, ячмень на сено
Сильное	0,8–1,0	Сахарная свекла, пырей западный, костер безостый, французский райграс
Очень сильное	1,0–1,5	
Чрезвычайно сильное	1,5	

Солеустойчивость обеспечивается разными механизмами, их можно объединить в два блока.

1. Защита тканей растения от обезвоживания.

Реализуется с помощью 3-х основных способов:

- снижение потерь воды за счет уменьшения открытия устьиц, большего развития кутикулы, уменьшения числа устьиц на единицу поверхности листа и т. д.;
- повышения отношения корня – побеги, когда лучше используется влага почвы (больше поглощается и меньше теряется в процессе транспирации,
- оптимизации процессов осморегуляции.

2. Защита тканей от ионной токсичности. Три основных способа характерны и для этого механизма защиты растений от засоления:

- селективное поглощение ионов почвенного раствора и их транспорта по растению;
- защита ферментов и биологических мембран с помощью органических веществ, связывающих вредные ионы;
- локализация указанных ионов в специальных компартаментах клеток.

Все галофиты делят на три группы:

1. **Настоящие галофиты** (эугалофиты, эвгалофиты) – наиболее устойчивые растения, накапливающие в вакуолях значительное количество солей. Поэтому они обладают большой сосущей силой, позволяющей поглощать воду из сильно засоленной почвы. Для растений этой группы характерна мясистость листьев, которая исчезает при выращивании их на незасоленных почвах. Типичные представители настоящих галофитов – солерос (*Salicornia herbacea*), сведа (*Suaeda corniculata*), сарсазан (*Halocnemum strobilaceum*), солончаковые виды тамарикса (*Tamarix gracilis*) и др.

2. **Солевыделяющие галофиты** (криногалофиты), поглощая соли, не накапливают их внутри тканей, а выводят из клеток на поверхность листьев с помощью секреторных железок. Выделение солей железками осуществляется с помощью ионных насосов и сопровождается транспортом больших количеств воды. Соли удаляются с опадающими листьями. У некоторых растений избавление от избытка солей происходит без поглощения больших количеств воды, так как соль выделяется в вакуоль клетки-

головки листового волоска с последующим ее обламыванием и восстановлением. К таким растениям относятся виды кермеков (*Statice gmelini* и др.), тамариксы (*Tamarix ramosissima* и др.), франкения (*Frankenia*) и др.

3. **Соленепроницаемые галофиты** (гликогалофиты) растут на менее засоленных почвах. Высокое осмотическое давление в их клетках поддерживается за счет продуктов фотосинтеза, а клетки малопроницаемы для солей. Типичный представитель этой группы – полынь (*Artemisia salina*).

Специализация галофитов к высоким концентрациям солей настолько велика, что некоторые из них в отсутствие этого фактора развиваются значительно хуже. Галофиты оказались способны заселять засоленные почвы с количеством солей от 0,3 до 20%, но основная масса этой группы растений обитает на почвах с концентрацией солей от 2 до 6%.

Одним из методов оценки степени солеустойчивости растений является проращивание семян в солевых растворах, который дает представление лишь о солеустойчивости растений в начальные фазы их развития. При определении солеустойчивости растений данным методом показателем устойчивости является количество проросших семян в растворах соли по сравнению с дистиллированной водой [8, 10, 12, 15-17, 19-20].

Влияние избытка минеральных элементов на растение

Значительное накопление или недостаток тех или иных необходимых растению элементов питания негативно сказывается на жизнедеятельности растений. Это связано с нарушением процессов, осуществление которых обес-

печивается наличием питательных элементов. Влияние концентрации макроэлементов в среде на функционирование растений имеет вид одновершинной кривой, (рис. 23). В диапазоне оптимальных концентраций обмен веществ и ростовые процессы протекают наиболее активно, а при снижении обеспеченности или избыточной концентрации физиологические процессы могут нарушаться [8, 9].

Сельскохозяйственные культуры проявляют различную чувствительность к избытку питательных элементов. Например, к избытку хлора слабо чувствительны зерновые и сахарная свекла, но у картофеля и льна он вызывает существенные повреждения и снижение урожая.

Растения выносят из почвы с урожаем значительное количество питательных веществ. Для восполнения потерь и повышения плодородия почвы вносят минеральные удобрения. Однако внесение большого количества удобрений может привести к снижению урожайности и даже гибели растений. Это связано с повышением концентрации почвенного раствора, снижением осмотического потенциала почвы и как следствие этого, ухудшением водоснабжения растений.

1. Определение солеустойчивости растений

В условиях засоления существенно повышается осмотическое давление почвенного раствора. Оно поднимается до угнетающего (0,5–1,0 МПа) и до губительного уровня (1,2–1,5 МПа). Нормальным для полевых культур является осмотическое давление 0,1–0,2 МПа.

Величина водного потенциала клеток изменяется в зависимости от условий внешней среды, рода и вида рас-

тений, их возраста. На незасоленных почвах овощные культуры (например, огурец) имеют величину водного потенциала в пределах $-0,2 \dots -0,5$ МПа, хлопчатник – $-1,0 \dots -1,5$ МПа. На засоленных почвах у хлопчатника водный потенциал понижается до $-1,8 \dots -3,0$ МПа, у степных ксерофитов – до $-4,0 \dots -5,0$ МПа, а у солончаковых растений (солянок) до $-5,0 \dots -10$ МПа и ниже.

Отмечается более высокая солеустойчивость злаковых по сравнению с бобовыми связана с тем, что центры происхождения многих из них (пшеница, ячмень, овес, просо, сорго) находятся в аридных районах, где засоленные почвы занимают большие территории. Длительная эволюция этих растений на фоне засоления почвы содействовала отбору наиболее устойчивых форм и закреплению этого признака в потомстве. У бобовых культур эволюция протекала в более мягких условиях, поэтому в семействе бобовых нет ни одного вида типичных галофитов [17, 19, 20].

Существуют прямые и косвенные методы определения солеустойчивости. К прямым методам относят выращивание растений в почве с разной степенью засоления. К косвенным лабораторным методам относят: плазмолитический или определение вязкости протоплазмы, определение скорости раскрытия устьиц, определение содержания альбуминов, определение проницаемости протоплазмы, определение интенсивности прорастания семян в растворах разной концентрации.

В данной работе солеустойчивость растений определяют по интенсивности прорастания семян.

Цель работы: Определить солеустойчивость различных сельскохозяйственных культур.

Объект: семена различных сельскохозяйственных культур (ячменя, кукурузы, томата, фасоли, капусты, свеклы и т.д.) (каждая пара студентов работает с одним определенным видом растения).

Ход работы:

1. В чашки Петри поместить кружки фильтровальной бумаги, предварительно простерилизованные в термостате при 150 °С в течение 1 часа. В чашки налить по 10 мл растворов NaCl разной концентрации в 3-х-кратной повторности по схеме:

1-й вариант – 5 %-ный раствор NaCl;

2-й – 7 %-ный раствор NaCl;

3-й – 10 %-ный раствор NaCl;

4-й вариант – дистиллированная вода.

2. В чашки раскладывают по 10...25 семян. Чашки с семенами оставляют в темноте при комнатной температуре на 5...7 дней (условия прорастания для семян конкретных растений уточнить в прил. 1).

3. По окончании проращивания в каждом варианте определить среднее число и процент проросших семян (можно дополнительно использовать показатели энергии прорастания, сроки уточнить по прил. 1). Число проросших семян в дистиллированной воде (контроль) принимают за 100 %, а в растворах NaCl вычисляют в процентах от контроля. Результаты всех повторений записать в сводную табл. 31 и рассчитать среднее значение по каждому варианту.

Определение солеустойчивости растений

Вариант опыта	Число проросших семян, %				Солеустойчивость растений
	1-ое повторение	2-ое повторение	3-е повторение	среднее	
Растение 1:					
1					
2					
3					
4					
Растение 2:					
1					
2					
3					
4					

Вопросы:

1. Что является причиной засоления почвы? 2. Назовите типы галофитов. Какие сельскохозяйственные растения обладают большей солеустойчивостью? 3. Каким образом солеустойчивые растения приспосабливаются к произрастанию на засоленных почвах? 4. Назовите пути повышения солеустойчивости культурных растений.

Реактивы: NaCl, дистиллированная вода, раствор формалина (1 мл на 300 мл воды).

Материалы и оборудование: термостат, чашки Петри, семена растений, кружки фильтровальной бумаги, мерные пипетки на 10 мл, стеклянные стаканы на 50 мл, пинцеты.

2. Влияние раствора аммиачной селитры (нитрата аммония) на прорастание семян

Нормирование элементов минерального питания – важный фактор получения высоких урожаев. При этом удобрения влияют и на осмотические показатели почв. Следует иметь в виду, что осмотический потенциал клеточного сока пшеницы обычно не ниже -20 атм., а у молодых проростков колеблется в пределах -5...-10 атм. Если осмотический потенциал почвенного раствора окажется ниже этих величин, вода не будет поступать в растения [17].

Цель работы: Установить влияние концентрации раствора нитрата аммония или другой соли-удобрения на прорастание семян различных сельскохозяйственных культур.

Объект: семена различных сельскохозяйственных культур (пшеница, рожь, ячмень, горох, фасоль, капуста, свекла и т. д.).

Ход работы:

1. В четыре чашки Петри помещают кружки фильтровальной бумаги, предварительно простерилизованные в термостате при 150 °С в течение 1 часа, на которых указывают вариант опыта.

В первую чашку вливают 9 мл 1,0 М раствора NH_4NO_3 (вариант 1). Во вторую и третью вливают по 9 мл 0,1 М (вариант 2) и 0,01 М (вариант 3) раствора NH_4NO_3 соответственно. В четвертую чашку приливают 9 мл водопроводной воды (вариант 4). Опыт проводят в 3-х-кратной повторности.

Растворы готовят следующим образом. В стаканчик на 50 мл вливают 1 мл 1,0 М NH_4NO_3 . Затем в этот же стаканчик добавляют 9 мл воды. После тщательного переме-

шивания 1 мл раствора переносят в другой стаканчик, а оставшиеся 9 мл раствора (0,1 М) вливают во вторую чашку Петри. К 1 мл раствора во втором стаканчике приливают 9 мл воды, перемешивают, 1 мл удаляют, а оставшиеся 9 мл раствора (0,01 М) вливают в третью чашку Петри.

2. В каждую чашку помещают по 10 неповрежденных одинаковых семян, раскладывая их равномерно по поверхности фильтровальной бумаги, закрывают крышками и ставят в темное место для проращивания (условия прорастания для семян конкретных растений уточнить в прил. 1).

3. Через 7...14 дней подсчитывают количество проросших семян (можно дополнительно использовать показатели энергии прорастания, сроки уточнить по прил. 1), измеряют длину ростков и корней у каждого проросшего семени. Рассчитывают средние значения этих показателей по каждому варианту в отдельности, результаты записывают в табл. 32.

4. Вычисляют осмотический потенциал 0,1 М и 0,01 М растворов, исходя из того, что осмотический потенциал 1 М раствора NH_4NO_3 равен 36,14 атм., а осмотический потенциал растворов прямо пропорционален их концентрации.

5. Полученные всей группой результаты анализируют и делают выводы о влиянии концентрации раствора на прорастание семян исследуемых растений.

Вопросы:

1. Что является причиной засоления почвы? 2. Назовите типы галофитов. Какие сельскохозяйственные растения обладают большей солеустойчивостью? 3. Каким образом солеустойчивые растения приспособляются к произрас-

танию на засоленных почвах? 4. Почему высокая концентрация минеральных удобрений может привести к снижению всхожести семян или вызвать гибель растений? 5. Почему дробный и локальный способы внесения удобрений более эффективны по сравнению с однократным и поверхностным? 6. Назовите пути повышения солеустойчивости культурных растений.

Таблица 32

Результаты исследования оптимальной концентрации раствора NH_4NO_3 для прорастания семян

№ варианта	Концентрации растворов NH_4NO_3 , моль	Осмотический потенциал растворов, атм	Количество проросших семян, шт	Средняя длина, мм	
				ростков	корешков
Название растения 1					
1					
2					
3					
4					
Название растения 2					

Реактивы: NH_4NO_3 , дистиллированная вода.

Материалы и оборудование: термостат, чашки Петри, семена растений, фильтровальная бумага, пипетки на 1 мл, стеклянные стаканы на 50 мл, пинцеты, линейки.

2.6. Газоустойчивость и радиоустойчивость

Проблема газоустойчивости и радиоустойчивости растений стала особенно актуальной с середины XX века в связи с бурным развитием промышленности, энергетики и транспорта, необходимостью отбора газоустойчивых форм для озеленения городов, создания насаждений около промышленных предприятий, рекультивации территорий.

В промышленно развитых странах наиболее сильными загрязнителями воздуха являются транспорт, отопительные системы, промышленные процессы, сжигание мусора. В воздух выделяется более 200 различных компонентов – продуктов деятельности человека. Это газообразные соединения: сернистый газ (SO_2), оксиды азота (NO , NO_2), аммиак (NH_3), угарный газ (CO), соединения фтора, углеводороды, пары кислот (серной, азотной, соляной), фенолы и другие. Атмосфера загрязняется частицами сажи, золы, пыли, которые содержат токсические оксиды свинца, селена, цинка и т. д. Все эти компоненты оказывают резко отрицательное влияние на жизненные функции растительного организма.

Газоустойчивость – это способность растений сохранять жизнедеятельность при действии вредных газов. Токсичные газы, попадая в листья, образуют кислоты или щелочи. Это приводит к изменению рН цитоплазмы, разрушению хлорофилла, нарушению клеточных мембран. Для разных видов растений характерен свой безопасный для жизнедеятельности уровень накопления токсичных газов. Так, лох, тополь и клен более устойчивы к хлору и сернистому газу (SO_2), чем липа и каштан. Растения, устойчивые

к засолению и другим стрессорам, имеют более высокую газоустойчивость.

Устойчивость растений к вредным газам определяется в значительной мере способностью устьиц закрываться в ответ на увеличение концентрации газов в воздухе. Важен также уровень содержания в клетках катионов (K^+ , Ca^{2+} , Na^+), способных нейтрализовать кислоты, поддерживая постоянство рН цитоплазмы [9].

Окислы азота, озон, пероксиацетилнитрат и др., проникая в растение, действуют как сильнейшие окислители, прежде всего, на фосфолипиды мембран, органелл и ЭПС клеток. В результате этого окисления мембраны теряют свои основные свойства, а клетки – свойственную им систему компартментов и структуру.

Воздушные токсиканты в критических дозах вызывают серьезные сдвиги в ходе физиологических процессов растений. Но эти сдвиги могут быть обратимыми при небольших дозах и экспозициях. Высокие же дозы при длительном пребывании растений в среде с газообразными загрязнителями приводят к рассогласованию физиолого-биохимических функций и отмиранию клеток и тканей (рис. 33).



Рис. 33. Схема действия промышленных газов на структуру и функции клеток и тканей растений (по Чирковой, 2002).

Ю. З. Кулагин выделяет следующие основные формы газо- и дымоустойчивости растений:

1) анатомо-морфологическая, связанная с особенностями строения покровных и внутренних тканей, препятствующих проникновению газов и их распространению по телу растения (ксероморфизм, плотное сложение внутренних тканей, пробка на побегах и стволах деревьев);

2) физиологическая, основанная на снижении активности газообмена, в частности, фотосинтеза, рефлекторном закрывании устьичных щелей и т. д.;

3) биохимическая, определяемая теми особенностями метаболизма, которые затрудняют или исключают повреждаемость ферментных систем и нарушения обмена веществ [20].

Сходную схему (рис. 34) механизмов адаптации предлагает Т. В. Чиркова (2002).

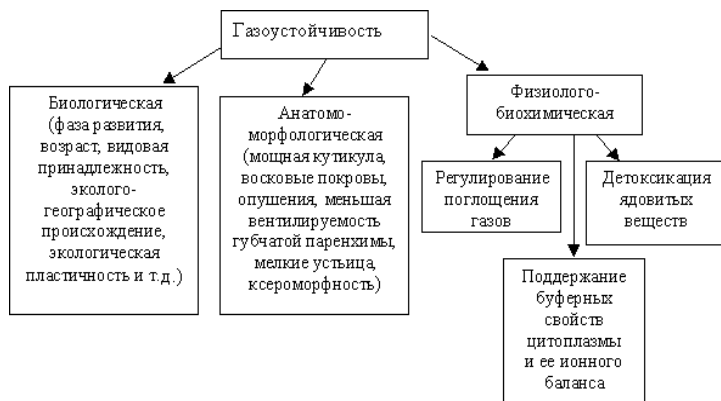


Рис. 34 Механизмы газоустойчивости растений.

Газоустойчивость растений повышается при оптимизации минерального питания и водоснабжения, а также в результате закаливания семян. Замачивание семян в слабых растворах соляной и серной кислот повышает устойчивость растений к кислым газам [20].

Радиоустойчивость растений

Различают прямое и косвенное действие радиации на живые организмы. Прямое действие энергии излучения на молекулу переводит ее в возбужденное или ионизированное состояние. Особенно опасны повреждения структуры ДНК: разрывы связей сахар-фосфат, дезаминирование азотистых оснований, образование димеров пиримидиновых оснований. Косвенное действие радиации состоит в повреждениях молекул, мембран, органоидов клеток, вызываемых продуктами радиолиза воды. Заряженная частица излучения, взаимодействуя с молекулой воды, вызывает ее ионизацию. Ионы воды за время жизни $10^{-15} - 10^{-10}$ сек способны образовать химически активные свободные радикалы и пероксиды. Эти сильные окислители за время жизни $10^{-6} - 10^{-5}$ сек могут повредить нуклеиновые кислоты, белки-

ферменты, липиды мембран. Первоначальные повреждения усиливаются при накоплении ошибок в процессах репликации ДНК, синтеза РНК и белков.

Устойчивость растений к действию радиации определяется следующими факторами:

1. Постоянное присутствие ферментных систем репарации ДНК. Они отыскивают поврежденный участок, разрушают его и восстанавливают целостность молекулы ДНК.

2. Наличие в клетках веществ – радиопротекторов (сульфгидрильные соединения, аскорбиновая кислота, каталаза, пероксидаза, полифенолоксидаза). Они ликвидируют свободные радикалы и пероксиды, возникающие при облучении.

3. Восстановление на уровне организма обеспечивается у растений:

а) неоднородностью популяции делящихся клеток меристем, которые содержат клетки на разных фазах митотического цикла с неодинаковой радиостойчивостью,

б) присутствием в апикальных меристемах покоящихся клеток, которые приступают к делению при остановке деления клеток основной меристемы,

в) наличием спящих почек, которые после гибели апикальных меристем начинают активно функционировать и восстанавливают повреждение [19].

Вопросы:

1. Какие анатомо-морфологические особенности повышают газоустойчивость растений? 2. Какие физиологические изменения позволяют растениям функционировать в условиях сильной загазованности? 3. Какие изменения в растениях вызывает действие радиации? 4. Назовите механизмы радиостойчивости.

2.7. Устойчивость к патогенам (иммунитет)

Воздействие на растительный организм патогенов можно назвать биотическим стрессом. Фитопатогенные грибы и бактерии обладают большим набором ферментов, разрушающих углеводные полимеры клеточных стенок растений. С помощью этих ферментов паразит проникает в клетку и питается ее содержимым.

В ходе ответных реакций у растения формируется фитоиммунитет – невосприимчивость растений к патогенным организмам – вирусам, бактериям, грибам, нематодам, насекомым, а также к продуктам их жизнедеятельности. Теорию иммунитета в России активно развивали Н. И. Вавилова и его последователи – К. Т. Сухоруков и Т. Д. Страхова [2].

У растений, так же как и у животных, выделяют врожденный (естественный) и приобретенный, или искусственный, иммунитет [2, 4, 20].

Врожденный иммунитет передается по наследству из поколения в поколение. В пределах врожденного иногда различают пассивный и активный иммунитет.

1. ***Пассивный иммунитет*** представляет собой свойство растений препятствовать внедрению патогена и развитию его в тканях растения-хозяина. Он существует независимо от наличия паразита. Среди факторов, действующих до заражения, можно выделить анатомо-морфологические, физические и химические. Факторы, действующие после заражения, индуцируются возбудителями: это химические и структурно-функциональные изменения в организме хозяина, вызываемые веществами, структурами или клетками патогенов [20].

2. *Активным иммунитетом* называют свойство растений реагировать на внедрение паразита (сюда относятся и изменение активности генов в их химическом и структурном проявлении). Важными веществами, для формирования фитоиммунитета, являются выделяемые патогенами вещества – элиситоры (от англ. elicit – выявлять, вызывать).

В роли элиситоров часто выступают биополимеры клеточных стенок патогенов и хозяев (хитин, глюканы, белки грибов, пектин, гемицеллюлозы растений) или продукты их ферментной деградации, а также содержащиеся в спорах грибов ненасыщенные жирные кислоты, белки жгутиков бактерий флагеллины, гидрофобные харпины, являющиеся частью фимбрий поверхности бактерий, белки вирусов [13, 19, 20].

Элиситоры играют роль первичных сигналов и приводят в действие сложнейшую сеть процессов индукции и регуляции фитоиммунитета. Это проявляется в синтезе защитных белков, фагоцитозе, реакция «сверхчувствительности», синтезе нелетучих растительных антибиотиков – фитоалексинов, в выделении антипатогенных летучих соединений и др.

Иммунитет, основанный на неспособности возбудителей вызывать заражение растений определенного вида, называется неспецифическим. Естественный неспецифический иммунитет защищает растение от большого числа окружающих его сапротрофных видов, которые в процессе эволюции не приобрели свойств, обеспечивающих способность паразитировать на растениях этого вида (зерновые культуры не поражаются фитофторозом и паршой карто-

феля, капуста – головневыми болезнями, картофель – ржавчинными болезнями зерновых культур и т. д.).

В некоторых случаях иммунитет может проявляться не видом растений в целом, а лишь отдельным сортом в пределах этого вида. Так, возбудитель рака картофеля *Synchytrium endobioticum* поражает вид *Solarium*, однако внутри него есть сорта, которые не поражаются этой болезнью. Такой иммунитет называют сортовым специфическим. Он имеет большое значение при выведении устойчивых сортов сельскохозяйственных растений.

Приобретенный иммунитет – это свойство растений не поражаться тем или иным возбудителем болезни, возникшее у растений после перенесения заболевания или под влиянием внешних воздействий, особенно условий возделывания растений. Устойчивость растений можно повысить различными приемами: внесением микроудобрений, изменением сроков посадки (посева), глубины заделки семян и т.д. Методы обретения устойчивости зависят от вида индукторов, которые могут быть биотической или абиотической природы.

В ответ на действие патогена в растениях значительно изменяется метаболизм. К числу наиболее значительных изменений при биотическом стрессе можно отнести следующие:

1. Снижение общей интенсивности синтеза биополимеров и липидов. Прекращение синтеза некоторых белков. Усиление катаболизма липидов и биополимеров.
2. Подкисление цитозоля с последующей активацией протонных помп, что возвращает рН к исходному значению.

3. Повышение в цитозоле содержания ионов кальция с последующей активацией кальциевых АТФаз.
4. Активизации ряда окислительных и гидролитических ферментов: пероксидаз, фенолоксидаз, глюконаз, хитиназ, протеаз, нуклеаз, фосфатаз и других.
5. Усиление синтеза или синтез отсутствовавших патоген-индуцируемых защитных белков (хитиназ, 3-1,3-глюканаз, ингибиторов протеиназ и др.).
6. Интенсификация синтеза укрепляющих клеточные стенки компонентов - лигнина, суберина, кутина, каллозы, богатого оксипролином белка.
7. Синтез антипатогенных нелетучих соединений – фитоалексинов. Большинство фитоалексинов обладает фунгистатическим действием.
8. Синтез и выделение летучих бактерицидных и фунгицидных соединений (гексеналей, ноненалей, терпенов и др).
9. Усиление синтеза стрессовых фитогормонов - абсцизовой, жасмоновой, салициловой кислот, этилена, гормона пептидной природы системина.
10. Торможение фотосинтеза и усиление дыхания с последующим его торможением. Активация альтернативной оксидазы, изменяющей направленность электронного транспорта в митохондриях
11. Апоптоз (программируемая смерть) клеток, подвергшихся воздействию патогенов, и соседних с ними [13].

Наиболее известным и распространенным механизмом устойчивости растений является реакция «сверхчувствительности». Она наиболее эффективна в ответ на за-

ражение устойчивых сортов биотрофами, поскольку они используют для паразитизма только живые клетки.

Реакция «сверхчувствительности» не ограничивается гибелью только инфицированных клеток: отмирают и граничащие с ними клетки, это прерывает инфекционный процесс и предотвращает дальнейшее развитие болезни.

Результатом активизации устойчивости может быть лигнизация стенок клеток вокруг очага инфекции, образование перидермы, так растение пытается инкапсулировать возбудителя в местах его проникновения.

В растениях существуют мобильные молекулы, которые могут активировать механизм устойчивости в клетках, удаленных от места инфекции. Основными сигнальными молекулами являются: салициловая кислота (связана с инфекцией бактериальной, грибной или вирусной) и жасмоновая кислота (образующаяся при повреждении растительной ткани, независимо от того, является ли это повреждение механическим, либо вызвано вредителями или факультативными паразитами). Кроме них на роль сигнальных молекул претендуют: системин, этилен и абсцизовая кислота.

Основные защитные молекулы растений не крупные белковые молекулы, а низкомолекулярные вещества (фенолы, терпеноиды, сапонины, алкалоиды) и неспецифичные (токсичные по отношению к большому числу видов патогенных грибов, бактерий и растений). Специфичен лишь их синтез в ответ на инфекцию. И хотя в зараженной клетке растения обычно образуется семейство близких по строению вторичных метаболитов (например, фитоалексинов), все они малоспецифичны и отличаются степенью

токсичности к штаммам и чувствительностью к их ферментам [2, 4, 19, 20].

Определение панцирности семян подсолнечника как фактора устойчивости к подсолнечниковой огневке

С введением в культуру подсолнечника подсолнечниковая огневка стала первостепенным вредителем, вызывая потери 20-60% урожая этой культуры. Радикальным приемом защиты растений против этого вредителя является выращивание панцирных сортов подсолнечника, которые почти не повреждаются гусеницами благодаря защитному слою оболочки семян. Таким образом, панцирность семян выступает в роли фактора устойчивости подсолнечника к подсолнечниковой огневке.

Факторы устойчивости растений играют первостепенную роль в сдерживании размножения вредителя, в частности, фитомеланин, содержащийся в перикарпе семян подсолнечника. Одним из методов оценки устойчивости сорта к огневке является обработка двуххромовосерной смесью (насыщенным 18-% раствором двуххромовокислого калия и концентрированной серной кислоты в соотношении 85:15). Эпидермис и пробковая ткань при этом обесцвечиваются, а панцирный слой нерастворим в смеси. Поэтому беспанцирные семянки становятся светлыми, а панцирные остаются темноокрашенными [2].

Цель работы: Определить панцирные и беспанцирные семянки подсолнечника.

Объект: семянки различных по устойчивости к подсолнечниковой огневке сортов подсолнечника.

Ход работы:

1. Отсчитать по 50-100 штук семян нескольких (2-3) сортов подсолнечника.

2. Поместить семянки в стеклянные стаканчики (каждый сорт отдельно) и залить двуххромовосерной смесью (насыщенным 18-% раствором двуххромовокислого калия и концентрированной серной кислоты в соотношении 85:15) на 10-20 минут.

3. Смесью слить, семянки тщательно промыть водопроводной водой и подсчитать количество панцирных и беспанцирных в каждой пробе.

4. Определить процент панцирности семян изучаемых сортов. Оценить их устойчивость к вредителю. Результаты записать в табл. 33

Таблица 33

Результаты подсчета беспанцирных семян

	Сорта		
	1	2	3
Число беспанцирных семян			
% беспанцирных семян			
Относительная стойчивость сорта к подсолнечниковой огневке			

Вопросы:

1. Что такое фитоиммунитет? 2. Какие виды иммунитета выделяют у растений? 3. Охарактеризуйте врожденный иммунитет. 4. Какие механизмы позволяют растениям быть устойчивыми к грибным инфекциям? 5. Какие анато-

мо-морфологические особенности позволяют растениям противостоять насекомым вредителям?

Реактивы: бихромат калия, серная кислота, дистиллированная вода.

Материалы и оборудование: чашки Петри, семена подсолнечника разных сортов, стеклянные стаканы на 150-200 мл, пинцеты.

2.8. Вопросы коллоквиума 2

1. Адаптации растений к неоптимальному освещению.
2. Адаптации растений к осмотическому стрессу.
3. Адаптации растений к низким температурам.
4. Адаптации растений к высоким температурам.
5. Адаптации растений к радиации и УФ-излучениям.
6. Адаптации растений к повышенной загазованности.
7. Адаптации растений к фитопатогенам.

2.9. Список литературы по разделу 2

1. Волосюк, С. Н. Осмотическое давление некоторых травянистых растений различных экологических групп / С. Н. Волосюк, М. В. Левковская // Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов /Мат. межд. конф. (7-9 октября 2015) Минск, Беларусь. Минск : «Конфидо». – 2015. – С. 39 - 40 – URL : <https://rep.brsu.by/bitstream/handle/123456789/5007/Осмотическое%20давление.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (дата обращения: 20.05.2023)
2. Гордеева, Е. И. Иммуитет растений: учебное пособие / Е. И. Гордеева, А. В. Крюкова, З. И. Курбатова. Великие Луки: Великолукская ГСХА, 2011. – 127 с.
3. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести : дата введения 1986-07-01 / Федеральное агентство по техническому регулированию. – Изд. официальное. – Москва : Стандартинформ, 1984. – 31 с.
4. Иммуитет растений / В. А. Шкаликов [и др.]. – Москва: КолосС, 2005. – 190 с.
5. Кретович, В. Л. Основы биохимии растений : Учеб. для ун-тов и технологич. вузов пищ. пром. / В. Л. Кретович. – 5-е изд., доп. - Москва : Высш. шк., 1971. – 464 с.
6. Кузнецов, В. В. Физиология растений: Учебник. / Вл. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. – Москва : Высш. шк., 2006. – 742 с.
7. Марковская, Е. Ф. Феномен ежесуточного кратковременного влияния низких закаливающих температур на жизнедеятельность растений / Е.Ф. Марковская, М. И. Сысоева, Е. Г. Шерудило // Онтогенез. – 2008. – Т. 39, – №5, – С. 323-332. – URL: http://ontogenez.org/archive/2008/5/Markovskaya_2008_5.pdf (дата обращения: 20.05.2023).

8. Найдун, С. Н. Минеральное питание растений. Методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов / С. Н. Найдун, В. М. Юрин. – Минск.: БГУ, 2004. – 47 с.
9. Физиологические основы устойчивости сельскохозяйственных растений : учебное пособие для подготовки магистров по направлению 35.04.04 «Агрономия» / Н. Е. Новикова, В. И. Зотиков; М-во сельского хоз-ва Российской Федерации, Федеральное гос. бюджетное образовательное учреждение высш. проф. образования «Орловский гос. аграрный ун-т» ФГБНУ ВНИИ зернобобовых и крупяных культур. – Орел : Картуш, 2015. – 173 с.
10. Одум, Ю. П. Экология : в 2 томах / Ю. П. Одум ; перевод с англ. Ю. М. Фролова ; под ред. В. Е. Соколова. – Москва : Мир, 1986. – Т. 2. – 1986. – 376 с.
11. Патент № 2244916 Российская Федерация, МПК G 01 N 21/25, C 09 B 61/00. Способ определения хлорофилла в растениях гречихи : № 2003120313/04 : заявл. 02.07.2003 : опубл. 20.01.2005 /Лобков В. Т., Наполова Г. В. ; заявитель ОГАУ. – 4 с. – URL: <https://patents.google.com/patent/RU2244916C1/ru> (дата обращения: 20.05.2023)
12. Полевой, В. В. Физиология растений : Учеб.для вузов / В. В. Полевой. – М.: Высш. шк., 1989. – 464 с.
13. Тарчевский, И. А. Сигнальные системы клеток растений / И. А. Тарчевский; [Отв. ред. А. Н. Гречкин]. – Москва : Наука, 2002. – 294 с.
14. Туманов, В. Н. Малый практикум по физиологии растений / В. Н. Туманов, С. Л. Чирук. – Гродно, 2012. – URL: https://ebooks.grsu.by/mal_prakt_po_fiziolog/razdel-7-

ustojchivost-rastenij-k-neblagopriyatnym-usloviyam-sredy.htm
(дата обращения: 20.05.2023).

15. Учебная практика по физиологии и биохимии растений: учеб. пособие / сост. О. А. Четина, Л. А. Чудинова; Перм. гос. нац. исслед. ун-т. – Пермь, 2018. – 94 с.

16. Физиология растений : учеб. для вузов рек. МО РФ / Н. Д. Алехина и др.; Под ред. И. П. Ермакова. – Москва : Академия, 2005. – 634 с.

17. Физиология устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды: Учебное пособие / Л. Г. Косулина, Э. К. Луценко, В. А. Аксенова. Ростов н/Д.: Изд-во Рост, ун-та, 1993. – 240 с.

18. Хелдт, Г.-В. Биохимия растений / Ганс-Вальтер Хелдт; пер. с англ. М. А. Брейгиной [и др.] ; под ред. А. М. Носова, В. В. Чуба. – Москва : Бином. Лаборатория знаний, 2011. – 471 с.

19. Чиркова, Т. В. Физиологические основы устойчивости растений / Т.В. Чиркова – СПб.: СПбГУ, 2002. – 244 с.

20. Чудинова Л.А. Физиология устойчивости растений: учеб. пособие к спецкурсу/ Л. А. Чудинова, Н. В. Орлова; Перм. ун-т. – Пермь, 2006. – 124с.

21. Якушкина, Н. И. Физиология растений : учеб. пособие для вузов по спец. 032400 "Биология" рек. УМО / Н. И. Якушкина, Е. Ю. Бахтенко. – Москва : Владос, 2005. – 463 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Справочные материалы для подготовки и выполнения лабораторных работ

Таблица 1

Степень диссоциации некоторых солей в водных растворах
при 18 °С и концентрации $C = 1$ моль/л

Электролит	α (степень диссоциации), %
KCl	86
NaCl	84
NH ₄ Cl	85
KNO ₃	83
AgNO ₃	81
CH ₃ COONa	79
ZnCl ₂	73
Na ₂ SO ₄	69
MgSO ₄	45
CuSO ₄	40

Таблица 2

Степень диссоциации KNO₃ в растворах
разной концентрации

Концентрация	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Степень	0,71	0,74	0,76	0,79	0,83

Приготовление молярных растворов

Определить молекулярную массу по сумме относительных атомных масс элементов, из которых состоит дан-

ное соединение. Для получения 1М раствора взвесить навеску вещества (г), соответствующую его молекулярной массе и растворить в 1 литре дистиллированной воды.

Приготовление раствора нейтрального красного

- a. **Основной раствор** (1:1000) готовится путем растворения 0,1г красителя в 100 мл дистиллированной воды. Раствор профильтровать и хранить в склянке из темного стекла.
- b. **Рабочий раствор** (1:10 000) готовится непосредственно перед использованием путем разбавления в 10 раз водопроводной водой основного раствора. Нельзя использовать старые растворы, особенно если они долго находились на дневном свете.

Техника приготовления срезов луковицы

Взять для опыта луковицу, находящуюся в состоянии полного покоя (никогда не следует применять прорастающие луковицы). Разрезать острым ножом очищенную луковицу на 4–6 равных частей, в этом случае отдельные чешуи сектора без затруднения отделяются друг от друга. Эти сектора сохраняются для опытов во влажном пространстве под каким-либо стеклянным колпаком. Чтобы обеспечить безупречную сравнимость опытов следует делать срезы эпидермиса с одной и той же чешуи, так как всегда следует помнить, что отдельные чешуи луковиц физиологически неравноценны (например, внутренние – более молодые с более кислым клеточным соком). Физиологическое развитие обнаруживается также между базальной и апикальной частями каждой чешуи, поэтому срезы всегда должны происходить из одной и той же ее зоны. Отделить одну чешую и в ее средней части при помощи очень

острого лезвия бритвы (чтобы уменьшить раневое раздражение) без надавливания, то есть скользящим движением сделать срезы толщиной в 2–3 слоя неповрежденных клеток. При приготовлении очень тонких срезов может наступить общее отмирание клеток, но в то же время очень толстые не дают четкой картины. Размер срезов не должен превышать 5x5 мм.

Прижизненное (витальное) окрашивание срезов лука

Срезы нижнего (наружного) эпидермиса лука сразу после приготовления поместить в бюкс с раствором нейтрального красного (1 : 10000), приготовленного непосредственно перед работой. Необходимо проследить, чтобы срезы не плавали на поверхности, а были полностью погружены в раствор. Для этого следует «утопить» с помощью препаративной иглы. Продолжительность окрашивания – 10–15 мин.

Извлечь из красителя один из срезов, перенести его на 1 сек. в каплю воды на часовом стекле для отмывки от лишнего красителя. Не следует очень долго держать срезы в воде, так как клетка при этом обесцвечивается вследствие пассивного выхода красителя из клетки.

Поместить срез на предметное стекло в каплю воды, закрыть покровным стеклом, рассмотреть препарат под микроскопом при малом увеличении. Используется метод светлого поля в проходящем свете. В живых клетках вакуоли окрашены в малиновый цвет. Поврежденные клетки легко распознаются по потере ими красного клеточного сока, или же вакуоли поврежденных клеток не окрашены, но окрашиваются в желтовато-красный цвет их цитоплазма и ядро.

Приготовление охлаждающих смесей

На 100 частей снега добавить одну из следующих солей:

- 30 частей хлорида калия (-10,9 °С)
- 45 частей нитрата аммония (-16,7 °С)
- 50 частей нитрата натрия (-17,7 °С)
- 33 части хлорида натрия (-21,3 °С)
- 143 части кристаллического хлорида кальция (-50,0 °С).

Хлоркобальтовая бумага

Кружочки из белой фильтровальной бумаги или обеззолненные тонкие фильтры диаметром около 5-6 см намочить в течение нескольких минут кювете с раствором хлорида кобальта:

- в 100 мл воды растворить 6,7 г $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ и 2,64 г хлорида натрия или
- приготовить 5% раствор хлорида кобальта $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Затем высушить розовую бумагу в подвешенном состоянии или между листами сухой фильтровальной бумаги до появления голубого цвета. Досушить кружки можно в сушильном шкафу при 45 – 50 °С до появления ярко-голубого цвета (при более высокой температуре бумага теряет гигроскопичность!).

Хранить стеклянные пластинки с прикрепленной к ним с помощью скотча хлоркобальтовой бумагой необходимо в эксикаторе над хлоридом кальция. Бумагу не трогать пальцами!

Приготовление светофильтров

Жидкий синий светофильтр. Водный раствор медного купороса, насыщенный аммиаком. Приготовить 4% водный раствор медного купороса ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). За-

тем насыщать его аммиаком NH_4OH до тех пор, пока образовавшийся вначале осадок $\text{Cu}(\text{OH})_2$ полностью не растворится, а окраска раствора при этом не сменится с голубой на сине-фиолетовую.

Жидкий красный светофильтр. Водный раствор бихромата калия (IV). Приготовить 1 % раствор бихромата калия ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

Хромовая смесь (хромпик)

63 г бихромата калия (IV) растворить в 35 мл воды и осторожно долить концентрированной H_2SO_4 на 1 л.

Способ употребления: Налить хромовую смесь в посуду на $\frac{1}{4}$, осторожно смочить стенки и слить обратно в склянку. Дать постоять несколько минут (очень грязной посуде – несколько часов) и промыть водой. Пипетки поставить на высокий цилиндр, заполненной хромовой смесью. Не следует мыть хромовой смесью посуду, загрязненную парафином, минеральными маслами и другими продуктами перегонки нефти. После долгого употребления раствор приобретает зеленую окраску. Такая смесь утрачивает моющие свойства и непригодна для дальнейшего использования.

Обработка химической посуды: Посуду мыть мыльным раствором или хромовой смесью. После хромовой смеси тщательно промыть водопроводной водой, а затем дистиллированной.

Обработка предметных и покровных стекол: Стекла промыть в мыльном растворе, а затем 20–30 мин. кипятить, применяя стиральный порошок. При более длительном кипячении мыло пристает к стеклу, образуя накипь, которую трудно удалить. Прокипяченные стекла взять из раствора

прицетом и промыть в проточной воде в течении 10–15 мин. Из проточной воды стекла также пинцетом перенести раствора хромовой смеси и выдержит в нем не менее суток (3 - 5 суток). После этого их промыть проточной водой и перевести в дистиллированную воду. Стекла считаются чистыми и обезжиренными, если вода скользит со стекла не задерживаясь. Покровные стекла мыть в смеси спирта и петролейного эфира, вытирая тонкой белой тряпочкой. Хранить стекла в сухом месте.

Особенности проращивания семян для физиологических экспериментов

Лабораторная всхожесть и энергия прорастания определяются лабораторными методами, при которых проращивание семян осуществляется в оптимальных условиях согласно ГОСТу 12038-84 (табл. 3), что позволяет определить эти показатели у основных полевых культур за короткий срок.

Для проращивания семян в качестве ложа используют песок или фильтровальную бумагу. Песок предварительно промывают, прокаливают и просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Фильтровальная бумага также должна быть чистой, не окрашенной ядовитыми веществами. Ее используют в виде кружков (в чашках Петри), конвертов (на стекле), в форме полос для проращивания в ваннах при постоянной подаче воды и в рулонах.

Перед проращиванием семян песок и фильтровальную бумагу увлажняют не допуская избытка воды. Лишней воде надо дать стечь с бумаги. Песок увлажняют до 60% для большинства полевых культур, а для бобовых культур – до 80% его полной влагоемкости. Чтобы устано-

вить, какое количество воды необходимо взять для соответствующего увлажнения песка, предварительно определяют полную его влагоемкость. Для этой цели пользуются металлическим цилиндром с сетчатым дном высотой 30 см и диаметром 8 см в соответствии со стандартом.

Таблица 3

Условия проращивания семян

Культура	Условия проращивания			Срок определения, сут.	
	ложе	t, °C	освещенность	энергии прораствания	всхожести
Пшеница мягкая	НП, МБ, Р, МБ*	20	Т	3	7
Пшеница твердая	НП, МБ, П, МБ*	20	Т	4	8
Рожь посевная	НП, МБ, П, МБ*	20	Т	3	7
Ячмень	ВП, НП,Р, МБ	20	Т	3	7
Овес	ВП, НП,Р, МБ	20	Т	4	7
Гречиха	Р, МБ	25, 20-30	Т	4	7

Рис	МБ, НП	20-30	Т	4	7
Просо	Р, МБ	20-30	Т	4	7
Кукуруза	НП,Р	25, 20-30	Т	4	7
Сорго	НП,Р,МБ	25, 20-30	Т	4	8
Горох	НП,ВП	20	Т	4	8
Чина посевная	НП,ВП	20	Т	3	7
Вика яровая и озимая	НП	20	Т	3	7
Соя	НП,Р	25, 20-30	Т	3	7
Бобы кормовые	НП	20	Т	4	10
Свекла сахарная, кормовая	НП,Г	20-30	Т	5	10
Брюква, турнепс	НП	20-30	Т	3	7
Морковь	НБ	20-30	Т,С	5	10
Подсолнечник	Р,НП	25, 20-30	Т	3	5
Горчица	НБ	25, 20-30	Т	3	6
Люцерна посевная	НБ, МБ	20	Т	4	7

Лен	НБ	20	Т	3	7
Рапс	НБ	20, 20-30	Т	3	7

Условные обозначения: НБ - на фильтровальной бумаге; МБ – между слоями фильтровальной бумаги; МБ – между слоями фильтровальной бумаги с постоянной подачей воды; Р – рулоны фильтровальной бумаги; Г – гофрированная фильтровальная бумага; НП - на песке; ВП – в песке; С – свет; Т - темнота.*

После полного увлажнения песка цилиндр вынимают из сосуда с водой, дают стечь лишней воде, фильтровальной бумагой удаляют воду снизу и с боков и взвешивают вместе с увлажненным песком. Разность между вторым взвешиванием цилиндра с увлажненным песком и первым взвешиванием с сухим песком будет равна массе воды, необходимой для полного увлажнения взятого песка.

Влажный песок для проращивания семян помещают в растильню (фаянсовую, пластмассовую), наполненную до 2/3 высоты, разравнивают и затем рядами, на расстоянии не менее 0,5–1,5 мм друг от друга, раскладывают на него семена одной пробы. Разложив семена, их вдавливают плоским предметом вровень с поверхностью песка.

Для проращивания семян на фильтровальной бумаге их таким же образом раскладывают на смоченную фильтровальную бумагу, положенную на дно растильни.

Растильни сверху должны быть прикрыты стеклянными пластинками. Но если растильни стандартного размера (пластмассовые) и одна может стать на борта другой,

то их так и расставляют, прикрывая стеклянной пластинкой только самую верхнюю. При проращивании семян необходимо следить за температурой термостата, а также обеспечивать приток к семенам свежего воздуха, периодически приоткрывая дверцы термостата.

Учет проросших семян при определении всхожести проводят в сроки, установленные техническими условиями для каждой культуры. Проросшие семена учитывают в два срока: при первом определяют энергию прорастания, при втором - всхожесть. При этом день закладки на всхожесть и день подсчета энергии прорастания или всхожести считают за одни сутки.

При подсчете всхожести семян отдельно учитывают нормально проросшие, набухшие, твердые, загнившие и ненормально проросшие семена. Однако надо запомнить, что для большинства полевых культур процент всхожести определяется только по нормально проросшим семенам.

К нормально проросшим относят семена, проростки которых имеют здоровые и неповрежденные корешки и росток; у культур, семена которых прорастают несколькими зародышевыми корешками (у хлебов 1 группы), к числу нормально проросших относят семена, имеющие не менее двух нормально развитых корешков размером более длины семени и росток размером не менее половины его длины; у культур, семена которых прорастают одним корешком (хлеба 2 группы, зернобобовые и др.), к числу нормально проросших относят семена, имеющие развитый главный зародышевый корешок размером более длины семени и сформировавшийся росток.

Набухшие, твердые семена относятся к непроросшим. У ряда бобовых культур (люцерна, донник, люпин и др.) ко времени подсчета всхожести семена остаются ненабухшими. Такие семена называются твердыми, и их подсчитывают отдельно.

Загнившие, ненормально проросшие семена, у которых проростки с уродливыми ростками или корешками или с ростками, но без корешков, относятся к невсхожим.

Таблица 4

Список необходимых для занятий реактивов и материалов

<i>Название</i>	<i>Название</i>
Аммиак	Натрия хлорид NaCl
Бихромат калия (IV)	Нейтральный красный
Глицерин	Нитрат аммония NH ₄ NO ₃
Железоаммонийные квасцы	Сахароза
Желатин	Соляная кислота HCl
Калия нитрат KNO ₃	Сульфат меди (II) пятиводный CuSO ₄ · 5 H ₂ O
Калия хлорид KCl	Уксусная кислота
Калия хромат K ₂ Cr ₂ O ₇	Фильтровальная бумага
Кальция карбонат CaCO ₃	Ферроцианид калия K ₄ [Fe(CN) ₆]
Кальция нитрат Ca(NO ₃) ₂	Формалин (или другой антисептик)
Кальция хлорид CaCl ₂	Хлорид железа (III) FeCl ₃
Кобальта нитрат Co(NO ₃) ₂	Хлороформ
Кобальта хлорид CoCl ₂	Этиловый спирт C ₂ H ₅ OH
Натрия гидрокарбонат NaHCO ₃	

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Основные метаболические пути преобразования углерода в растении

1. Процессы фотосинтеза

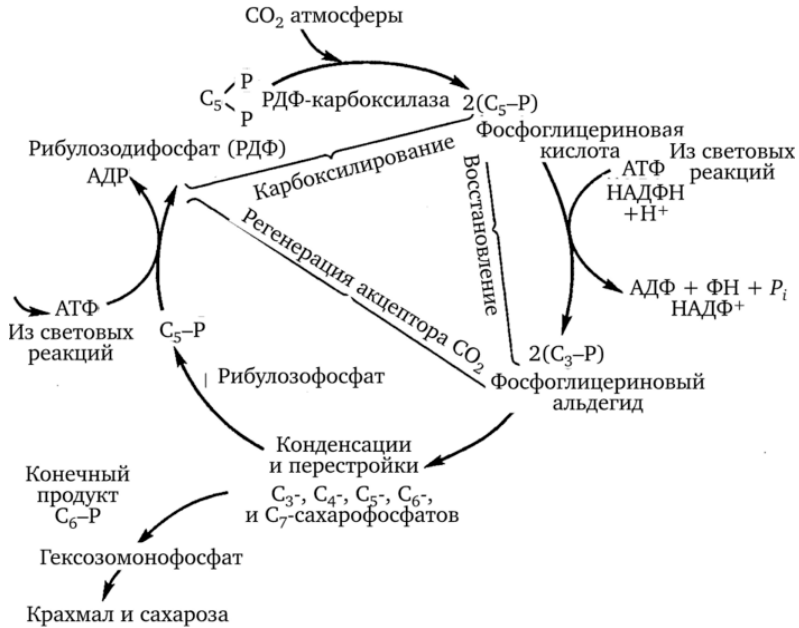


Рис. 1. Общая схема восстановительного пентозофосфатного цикла (цикла Кальвина-Бенсона).

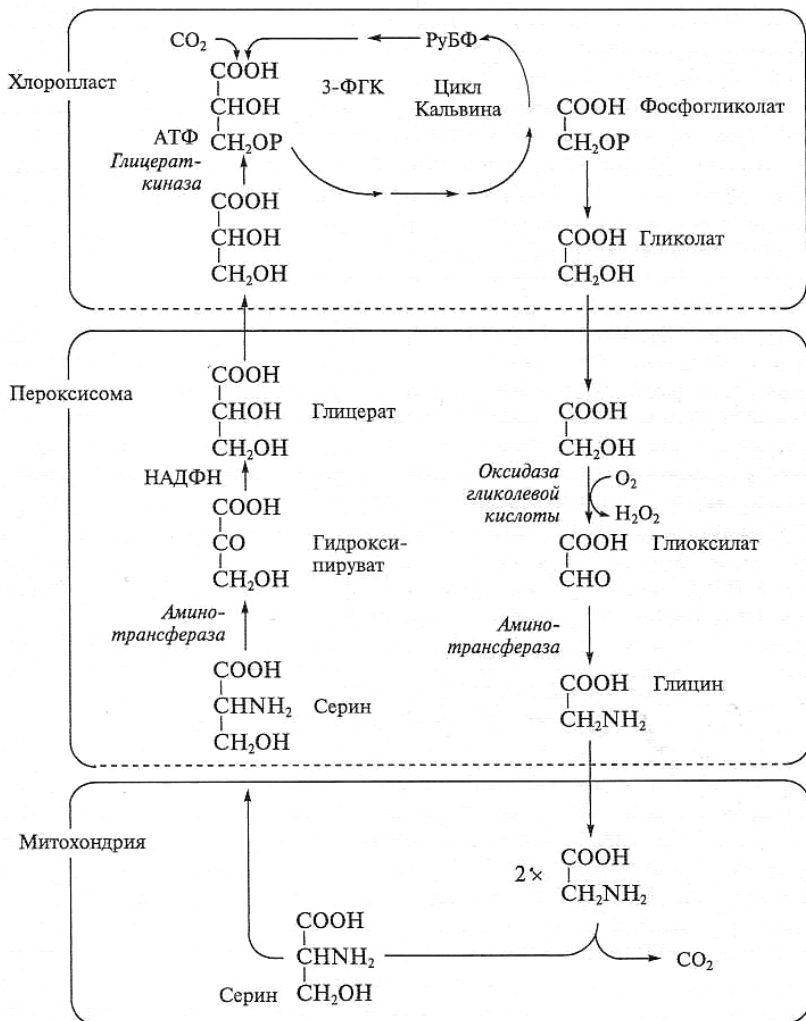


Рис. 2. Общая схема фотодыхания (гликолатный путь).

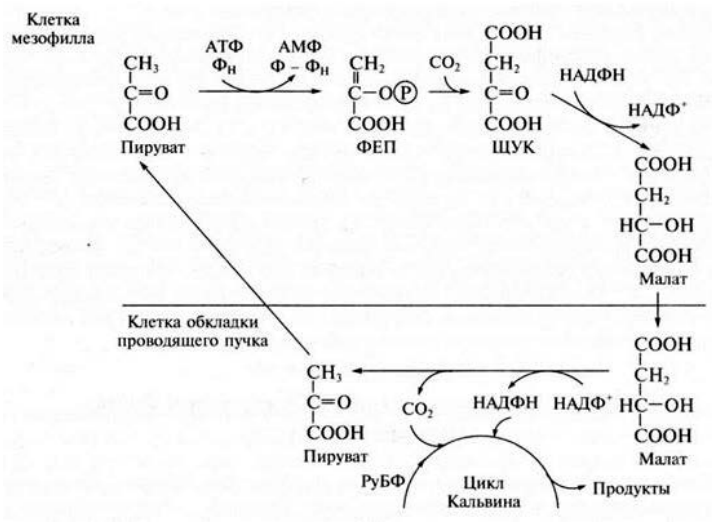


Рис. 3. С-4 путь фотосинтеза (цикл Хэтча-Слека-Карпилова). НАДФ-малатдегидрогеназный вариант.

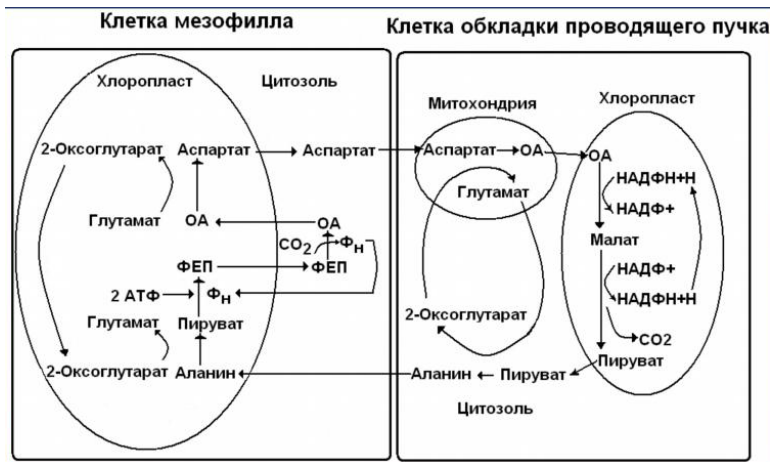


Рис. 4. С-4 путь фотосинтеза (цикл Хэтча-Слека-Карпилова). НАД-малатдегидрогеназный вариант.

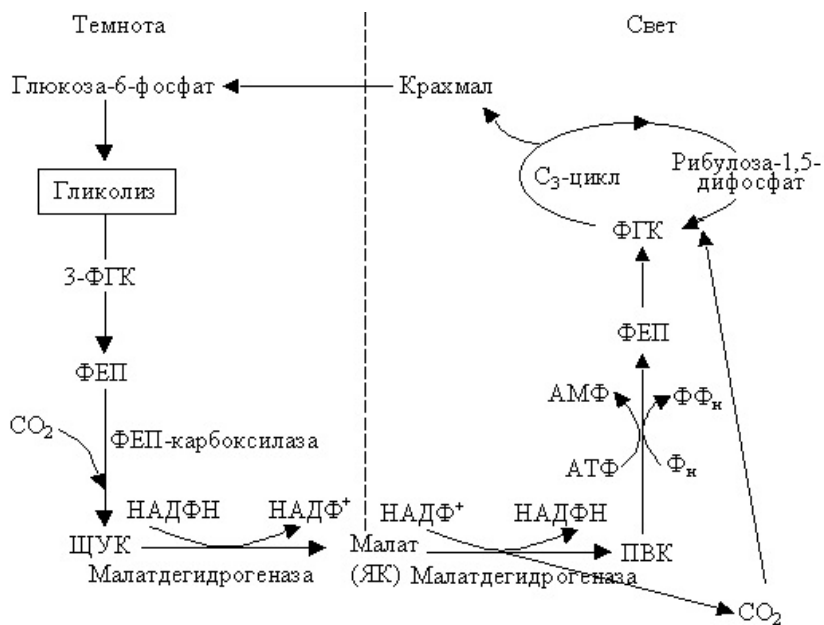


Рис. 5. Фотосинтез по типу толстянковых (САМ-метаболизм).

2. Процессы дыхания

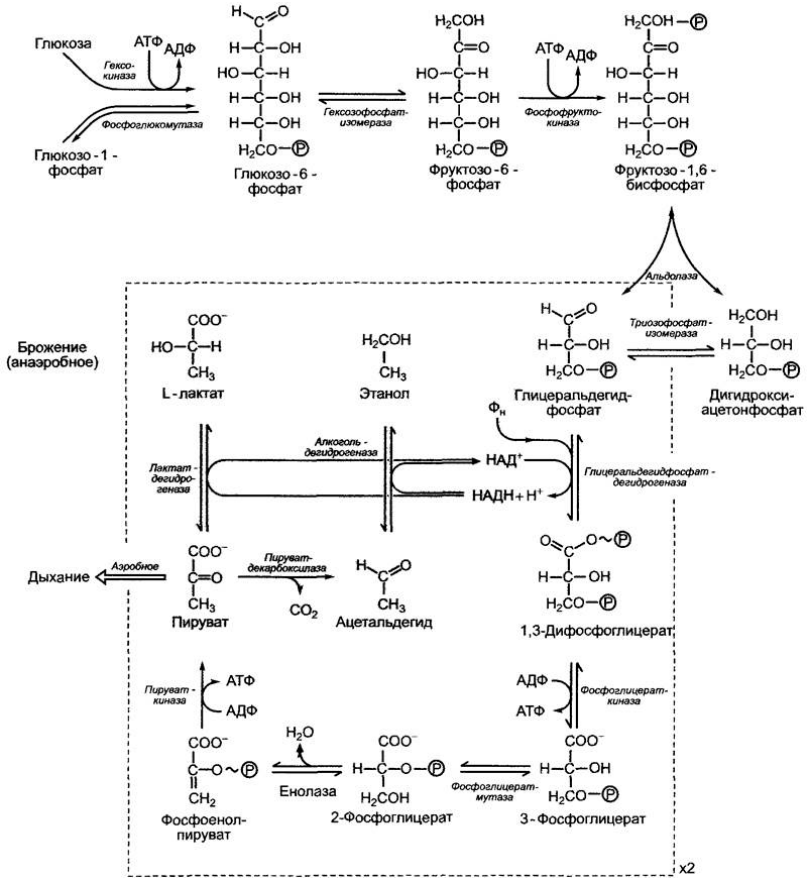


Рис. 6. Общая схема гликолиза, а также образования анаэробных продуктов в условиях гипоксии

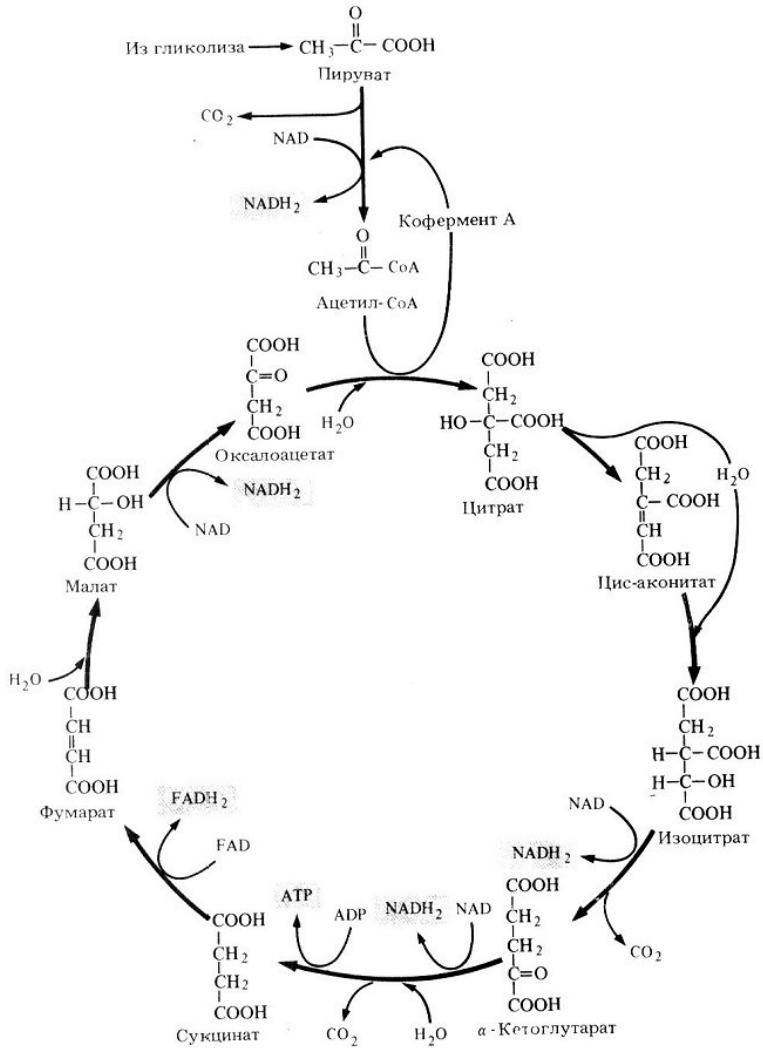


Рис. 7 Цитратный цикл (цикл лимонной кислоты, цикл ди- и трикарбоновых кислот, цикл Кребса).

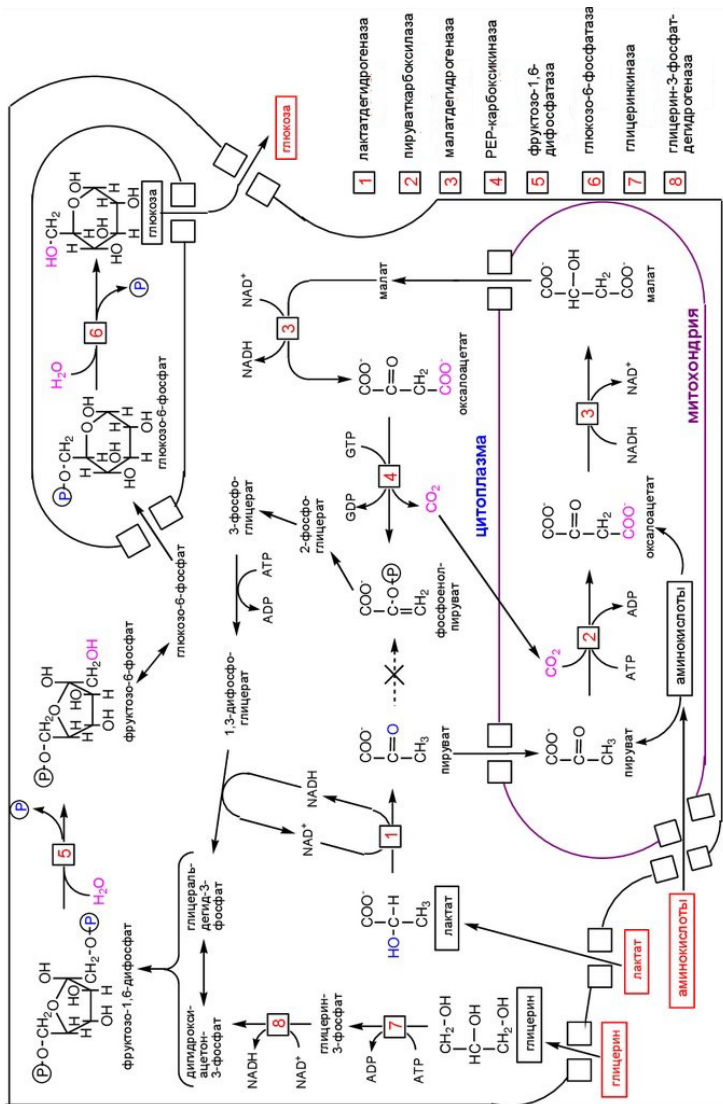


Рис. 8. Глюконеогенез.

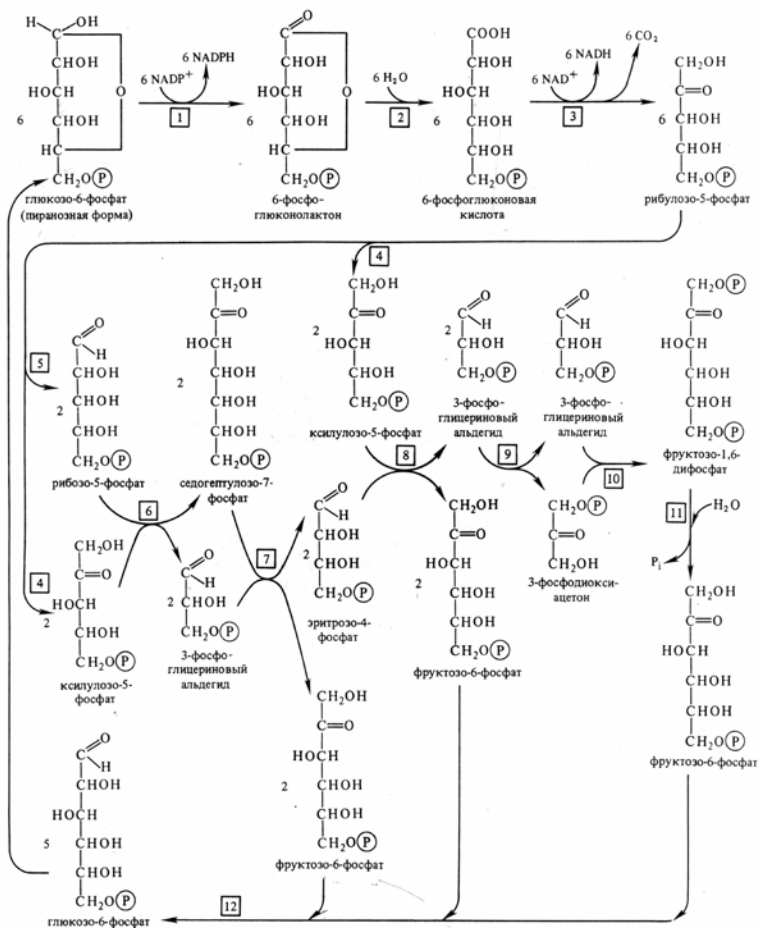


Рис. 9. Общая схема окислительного пентозофосфатного пути.

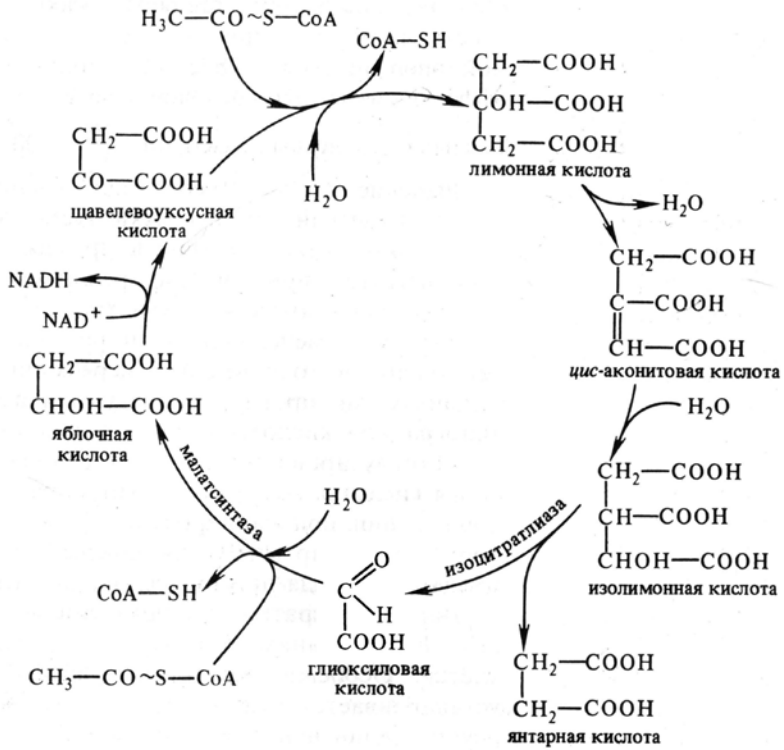


Рис. 10. Глиоксилатный цикл.

Учебное издание

Составитель:
Зыкина Наталья Григорьевна

**Учебно-методическое пособие по дисциплине
Экологическая физиология растений**

*Авторская редакция
Компьютерная верстка: А. Ж. Фаттахова*

Издательский центр «Удмуртский университет»
426034, г. Ижевск, ул. Ломоносова, 4Б, каб. 021
Тел.: + 7 (3412) 916-364, E-mail: editorial@udsu.ru