



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«ЮЖНО-УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ГУМАНИТАРНО-
ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО «ЮУрГГПУ»)

ФАКУЛЬТЕТ ЕСТЕСТВЕННО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ
КАФЕДРА ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ

**Влияние закаливания на устойчивость
фотосинтетических пигментов некоторых овощных
культур к действию ультрафиолетового излучения**

Выпускная квалификационная работа
по направлению 44.03.05 Педагогическое образование
Направленность программы бакалавриата
«Химия. Биология»

Проверка на объем заимствований:
59,42 % авторского текста


Работа рекомендована к защите
рекомендована/не рекомендована

« 26 » мая 2017 г.

И.о. зав. кафедрой Общей биологии
и физиологии
(название кафедры)

 Байгужин П.А.

Выполнила:
Студентка группы ОФ-501/064-5-1
Чипижная Людмила Викторовна

Научный руководитель:
к.б.н., доцент
 Третьякова Ирина Анатольевна

Челябинск
2017

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1.1 Виды устойчивости растений к низким температурам	6
1.3 Способы повышения холодостойкости некоторых растений	8
1.4 Закаливание растений для повышения морозоустойчивости.....	11
1.5 Фазы закаливания.....	12
1.7 Пигменты и их характеристики	17
1.8 Действие ультрафиолетового излучения на клетку	21
ГЛАВА 2. ВЛИЯНИЕ ЗАКАЛИВАНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ	24
И УСТОЙЧИВОСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ	24
РАСТЕНИЙ ОГУРЦА И ТОМАТА К ДЕЙСТВИЮ.....	24
УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ	24
3.2 Схема опыта.....	25
3.4 Влияние низких положительных температур на устойчивость фотосинтетических пигментов растений огурца и томата к действию ультрафиолетового излучения.....	27
ГЛАВА 3. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	35
ПО ПРИМЕНЕНИЮ МАТЕРИАЛА В ШКОЛЬНОМ КУРСЕ	35

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время при ухудшении экологического состояния окружающей среды, в связи с продолжающимся разрушением озонового слоя под действием антропогенного фактора и, как следствие, увеличением дозы ультрафиолетовой радиации, актуальным становится вопрос изучения действия ультрафиолетового излучения на живые организмы, в том числе и растительные.

Живые системы обладают удивительным свойством сочетать устойчивость, т.е. относительную стабильность при изменяющихся условиях среды и подвижность, т.е. приспособление к этим условиям. В случае воздействия неблагоприятных факторов реакция растений может нести двухфазный характер. В первой фазе наблюдаются значительные отклонения в физиолого-биохимических процессах, во второй фазе (репарации) нарушенные процессы возвращаются к норме, наступает их стабилизация на новом уровне или наступает угнетение жизнедеятельности и гибель.

При медленном развитии неблагоприятных условий организм легче приспособливается к ним. Это даже может привести к повышению устойчивости к действию данного фактора. Следует так же отметить, что различные неблагоприятные воздействия могут вызывать сходные неспецифические физиологические изменения. В связи с этим в некоторых случаях растительные организм обладает устойчивостью сразу к нескольким неблагоприятным факторам, или быть устойчивым к одному воздействию и неустойчивым к другому.

Таким образом, повышение одного вида устойчивости, влияя прямо или косвенно, улучшая или ухудшая состояние растения, может способствовать, или препятствовать их адаптации к другим факторам среды. По-

добного рода взаимосвязи между различными видами устойчивости называют сопряженными.

В этой связи представлялось интересным определить степень и качество сопряжения между устойчивостью к низким температурам и ультрафиолетовым излучением.

Поэтому целью данного исследования было изучить влияние закаливания на устойчивость фотосинтетических пигментов некоторых овощных культур, к действию ультрафиолетового излучения *in vitro*.

Для реализации поставленной цели было необходимо решить следующие задачи:

1. Изучить действие закаливания семян на содержание основных и дополнительных фотосинтетических пигментов в листьях растений: огурца сорта «Конкурент» и томата сорта «Бычье сердце».
2. Изучить влияние низких положительных температур на устойчивость основных и дополнительных пигментов к действию ультрафиолетовой радиации в листьях растений: огурца сорта «Конкурент» и томата сорта «Бычье сердце».
3. Исследовать комбинированное действие ультрафиолетового облучения и низких положительных температур на концентрацию фотосинтетических пигментов в листьях растений: огурца сорта «Конкурент» и томата сорта «Бычье сердце».

Актуальности темы.

Одной из наиболее важных проблем в земледелии является разработка и внедрение новых методов повышения продуктивности сельскохозяйственных растений. В настоящее время в нашей стране проводятся исследования, свидетельствующие о положительном влиянии ультрафиолетового облучения на урожай и качество урожая сельскохозяйственных культур.

Объект исследования: семена и листья растений огурца сорта «Конкурент» и томата сорта «Бычье сердце».

Предмет исследования: влияние низких положительных температур на устойчивость фотосинтетических пигментов растений томата и огурцы к действию ультрафиолетового излучения.

Гипотеза. Разные виды растений устойчивы (или неустойчивы) к различным стрессовым воздействиям. Приобретение устойчивости под воздействием одного из неблагоприятных факторов может вызывать повышение устойчивости растительного организма к другим стрессовым воздействиям. П.А. Генкель сформулировал это в положении о сопряженной устойчивости [18].

Теоретическая и практическая значимость работы: полученные результаты могут быть использованы при подготовке к курсам лекций по физиологии и анатомии растений; школьном курсе результаты данной работы могут быть использованы в проектной и научной деятельности обучающихся, а также в практической деятельности по выращиванию овощных культур в условиях Челябинской области.

Изучение закономерностей жизнедеятельности растений является теоретической основой для получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур.

ГЛАВА 1. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ДЕЙСТВИЮ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ

1.1. Виды устойчивости растений к низким температурам

По устойчивости растений к низким температурам их подразделяют на холодостойкие и морозоустойчивые. Растения способные переносить положительные температуры несколько выше 0°C относят к холодостойким – это растения умеренной полосы (ячмень, овес, лен, вика и др.). Тропические и субтропические растения не выдерживая холодов, повреждаются и отмирают при температурах от 0 до 10°C (кофе, хлопчатник, огурец и др.). Для большинства сельскохозяйственных растений низкие положительные температуры не являются губительными. Небольшое охлаждение у таких растений не вызывает расстройство функций ферментативного аппарата, не снижается устойчивость к грибным заболеваниям и не наблюдается заметных внешних повреждений растения [14].

Степень холодостойкости у растений неодинакова и большинство растения южных широт повреждаются холодом. При положительной температуре в 3°C повреждается огурец, хлопчатник, фасоль, кукуруза, баклажан. Холодоустойчивость различна и у сортов. Под характеристикой холодостойкости растений пользуются термином температурный минимум, при котором рост растений прекращается. Для большего числа групп сельскохозяйственных растений его величина составляет 4°C . Однако большинство растений обладает высоким температурным минимумом, а следовательно являются менее устойчивыми к воздействию холода [14].

Морозоустойчивость – это способность растений переносить температуру не только ниже 0°C , но и более низкую. Морозоустойчивые растения способны противостоять действию отрицательных температур. Морозы зимнего периода с температурой ниже -20°C обычны для территории России. Воздействию морозов подвержены однолетние, двулетние и мно-

голетние растения, перенося их в различные периоды онтогенеза. Например, у однолетних культур зимуют семена (яровые растения), раскустившиеся растения (озимые), у двулетних и многолетних зимуют клубни, корнеплоды, луковицы, корневища, взрослые растения [24].

Такая удивительная способность озимых, многолетних травянистых и древесных плодовых культур обусловлена достаточно высокой морозоустойчивостью, в сильные морозы погибнуть могут некоторые ткани растения, однако в целом растение не погибнет [14].

Физиолого-биохимические изменения у теплолюбивых растений при пониженных положительных температурах.

При повреждении холодом, происходит нарушение доставки воды к транспортирующим органам и растение теряет тургор, меняется его окраска (из-за разрушения хлорофилла), а также наблюдаются значимые нарушения физиологических функций, связанные с дисфункцией обмена белков и нуклеиновых кислот. Нарушается цепочка $DNK \rightarrow RNK \rightarrow \text{белок} \rightarrow \text{признак}$ [20].

У некоторых видов растений усиливается распад белков и происходит накопление в клетках тканей растворимых форм азота. Структурные изменения митохондрий и пластид снижают аэробное дыхание и фотосинтез, деградация хлоропластов и разрушение структуры пигментно-липидного комплекса подавляет процесс запасания энергии выше перечисленными органоидами, что приводит к нарушению энергетического обмена растения в целом. Основная причина повреждающего действия теплолюбивых растений низкими температурами, помимо изменения общих процессов обмена, является нарушение функциональной активности мембран, в связи с переходом насыщенных жирных кислот в состояние геля. Процесс распада начинает преобладать над синтезом, происходят нарушения проницаемости цитоплазмы (повышение ее вязкости), изменения в системе коллоидов, снижается (падает) осевой градиент потенциалов по-

коя (ПП), активный транспорт веществ против электрохимического градиента [5].

Приспособление растений к низким положительным температурам.

Изменение проницаемости мембран влечет за собой нарушение транспортировки и поступлений веществ в растения, а также отток токсичных веществ из клетки. Все данные изменения значительно снижают жизнеспособность и могут привести к гибели растений. Более того, растения становятся более подверженными к действию болезней и вредителей, а следовательно влияет на качество и количество урожая [13].

У более холодостойких растений отмеченные выше нарушения выражены значительно слабее и не сопровождаются гибелью растения. Устойчивость к низким температурам является генетически детерминированным признаком. Изменение уровня физиологических процессов и функций под действием низких положительных температур служит хорошим диагностическим показателем в сравнительной оценке холодостойкости растений (видов, сортов). Холодостойкость растений определяет способность растений к сохранению нормальной структуры цитоплазмы, а также изменению процесса обмена веществ в период резких температурных перепадов [18].

Для оценки холодостойкости растений используют прямые и косвенные методы диагностики, например: проращивание семян, сверхранние посевы в сырой и непрогретой почве, учет интенсивности появления всходов, темпов роста, накопления массы, содержание хлорофилла, соотношение количества электролитов в надземной и подземной частях растения, оценка изменчивости изоферментного состава и прочее.

1.2. Способы повышения холодостойкости некоторых растений

Холодостойкость некоторых теплолюбивых растений повышают с помощью закаливания прорастающих семян или рассады, стимулируя защитно-приспособительную перестройку метаболизма. Наклонувшиеся семена либо рассаду теплолюбивых культур, таких как например: огурец,

томат, дыня и др. выдерживают при чередующихся переменных температурах: от 0 до 5°C и при 15–20°C, в течении нескольких суток. У ряда растений холодостойкость повышается уже при замачивании семян, с использованием 0,25%-х растворов с микроэлементами. Таким образом, холодостойкость растений повышает прививка теплолюбивых растений (арбуз, дыня) на более холодоустойчивые подвои (тыква). Прием основан на стабилизации энергетического обмена и упрочения клеточных структур органоидов обработанного растения. Закаленные растения при понижении температуры не так быстро увеличивают вязкость протоплазмы [18].

Один из видов влияние низких температур на растения это заморозки. Огромный вред сельскому хозяйству могут нанести кратковременные или длительные заморозки в весенний и осенний периоды, а в северных широтах даже в летний сезон. Понижение температуры до малых отрицательных величин может произойти на разных фазах развития конкретных растений. К наиболее опасным относятся летние заморозки во время усиленного роста.

Устойчивость к заморозкам обусловлена:

- видом растения;
- фазой развития;
- физиологическим состоянием;
- условиями минерального питания;
- увлажненностью;
- интенсивностью и продолжительностью заморозков;
- а также погодными условиями, предшествующими заморозкам.

Растения раннего срока посева, относятся к наиболее устойчивым: яровые хлеба, зернобобовые культуры. В ранние фазы онтогенеза, они способны выдерживать кратковременные весенние заморозки до –7... –10°C.

Растения позднего срока посева не всегда успевают подготовиться к низким температурам, за счет более медленного развития. Корнеплоды, большинство масличных культур, лен, конопля переносят понижение температуры до $-5... - 8^{\circ}\text{C}$, соя, картофель, сорго и кукуруза – до $-2... -3$, хлопок до $-1,5... -2$, бахчевые культуры – до $-0,5... -1,5^{\circ}\text{C}$ [14].

Важную роль в устойчивости к заморозкам отводят фазам развития растений, в связи с образованием льда в клетках и межклеточниках. Большую опасность представляют заморозки в фазе цветения – начало плодоношения. Яровые хлеба в фазе всходов переносят заморозки до $-7... - 8^{\circ}\text{C}$, в фазе выхода в трубку до -3 , а в фазе цветения – только $1-2^{\circ}\text{C}$. Вероятность полного восстановления растения и нормального течения функций возрастает за счет высокой проницаемости мембран в условиях заморозков при условии отсутствия ледяных образований. В связи с этим возможность быстрого транспорта свободной воды из клеток в межклеточники, имеет первостепенное значение [14].

При снижении температур, устойчивые к заморозкам культуры увеличивают содержание ненасыщенных жирных кислот в составе клеточных мембран снижающих температуру фазового перехода липидов из жидкокристаллического состояния в гель до уровня 0°C . Неустойчивые к заморозкам растения осуществляют такой переход при температурах выше 0°C . Для снижения максимального числа повреждений растения заморозками посев проводится в оптимальные сроки, используя рассаду для овощных и цветочных культур.

Защита от заморозков:

- дымовые завесы;
- пленка;
- дождевание растений или весенний полив.

Для вертикального перемещения воздушных масс вблизи плодовых деревьев устанавливают вентиляторы.

1.3. Закаливание растений для повышения морозоустойчивости

Морозоустойчивость растений не является постоянным свойством и зависит от физиологического состояния растений и внешних факторов. Растения, выращенные, при относительно низких положительных температурах являются более устойчивыми. Данное свойство формируется согласно генотипу в процессе онтогенеза растения под влиянием условий среды и связано с резким снижением темпов роста, а также с переходом растения в состояние покоя [26].

Цикл развития озимых, двулетних и многолетних растений контролируется световым и температурным ритмом, а также сезоном. Яровые, в отличие от однолетних растений готовятся к неблагоприятным зимним условиям с момента остановки роста и в период наступления низких осенних температур [26].

Повышение морозоустойчивости тесно связано с закаливанием растений – постепенной подготовкой к низким зимним температурам. Закаливание является обратимой физиологической устойчивостью к воздействиям окружающей среды. Однако способность к закаливанию есть не у всех растений, например, южные сорта и породы не переносят морозы. Способность древесных и зимующих травянистых растений северных широт к закаливанию, в период летней вегетации отсутствует и проявляется только во время наступления осенних пониженных температур. Данный процесс возможен лишь в определенные этапы развития и лишь при условии окончания процесса роста [26].

Разные органы растений обладают различной способностью к закаливанию, например, листья листопадных деревьев: яблоня, груша, вишня, не обладают способностью к закаливанию; цветочные почки закаливаются хуже, чем листовые. У вегетирующих растений легко вымерзают растущие и не закончившие рост органы и выносливость растений этого периода незначительная [26].

При задержке развития растения эффект закаливания не дать ожидаемого результата, например: если в летний период, из-за засухи, процесс роста не окончился, то в зимний период растение может погибнуть. Суть в том, что засуха, приостанавливая летний рост растения, не позволяет завершить его к осени. В процессе закаливания должен успеть произойти отток различных веществ из надземных органов в подземные зимующие: корневые системы, корневища, луковицы, клубни, следовательно, процесс закаливания травянистых и древесных растений ухудшает избыточное азотное питание, удлиняющее период роста до поздней осени и в результате растения гибнут даже при небольших морозах.

Яровые злаки при озимом посеве растут при более пониженных положительных температурах, не снижая темпов роста в осенний период, а следовательно не способны к закаливанию. Условиям внешней среды отводится большая роль в закаливании, например: доказана необходимость наличия света для озимых культур. Сокращение фото периода это сигнал к прекращению роста и стимул для накопления ингибиторов. Вероятно, что именно данный процесс позволяет формировать морозоустойчивость растений.

Следовательно, растения, выращенные в несоответствующий им фото период, не успевают завершить летний рост и не способны к закаливанию. Продолжительный день способствует образованию в листьях черной смородины фитогормонов стимуляторов роста, а короткий – накоплению ингибиторов. В естественных условиях к закаливанию способен организм при наличии корневой системы, предположительно в именно в ней вырабатываются вещества, повышающие морозоустойчивость растения [26].

1.4. Фазы закаливания

Согласно исследованиям И.И. Туманова, процесс закаливания растений проходит в две фазы которым предшествуют замедление роста и переход растений в состояние покоя, с учетом комплекса внешних условий. Однако, оно в состоянии лишь незначительно повысить морозоустойчи-

вость растения. Травянистые растения осуществляют переход в состояние покоя в период первой фазы закаливания. У древесных растений покой наступает до прохождения первой фазы закаливания, в осенний период.

Состояние покоя меняет баланс фитогормонов: уменьшение ауксина и гиббереллинов и увеличение абсцизовой кислоты, благодаря которой ослабляются и ингибируются ростовые процессы, обуславливая наступление периода покоя. Поэтому обработка растений, например: озимой пшеницы, люцерны и других культур ингибиторами роста повышает устойчивость растений к низким температурам [26].

Первая фаза закаливания проходит не только на свету, но и при низких положительных температурах в ночное время (днем около 10°C, ночью около 2°C) при умеренной влажности почвы. Озимые злаки проходят первую фазу на свету при среднесуточной температуре 0,5–2°C за 6–9 дней, древесные – за 30 дней, с последующим замедлением и даже полной остановкой ростовых процессов [26].

Свет является необходимым условием не только для процесса фотосинтеза, но и поддержания ультраструктур клетки. Это позволяет за счет фотосинтеза образовываться сахарам, а ночное понижение температуры позволяет снизить их расход на дыхание и процесс роста. Таким образом, в клетках растений накапливаются сахароза, другие олигосахариды, растворимые белки и т.д., в мембранах, содержание ненасыщенных жирных кислот, а также происходит снижение точки замерзания цитоплазмы и уменьшение внутриклеточной воды [26].

Наиболее благоприятные условия первой фазы закаливания озимых растений создает солнечная и прохладная до 10°C погода, способствующая накоплению углеводов и защитных веществ. Оптимальный срок первой фазы закаливания озимых злаков до двух недель, количество сахаров в растении возрастает до 70 % на сухую массу или до 22 % на сырую массу, т.е. аналогично содержанию сахаров в корнеплодах наилучших сортов сахарной свеклы [26].

Однако, процесс закаливания озимой пшеницы можно проводить и в темноте при 2°C , погрузив корневую систему или узлы кущения в раствор сахарозы. Такие растения выдержат морозы до -20°C . Накапливающиеся сахара локализируются: в клеточном соке, цитоплазме, клеточных органеллах и хлоропластах. Закаливание высоко морозоустойчивых сортов озимой пшеницы при температуре, близкой к 0°C , количество сахаров в хлоропластах листьев увеличивалось в 2,5 раза, что позволяет хлоропластам продолжать функционировать [26].

В хлоропластах, как и в листьях, содержатся те же формы сахаров: фруктоза, глюкоза, сахароза, олигосахара. Имеются данные, что при накоплении сахаров процесс фотофосфорилирования продолжается даже при отрицательных температурах. Более морозоустойчивые виды и сорта растений быстрее накапливают сахар в сочетании пониженной температуры с умеренной влажностью почвы. Это обусловлено тем, что в первой фазе закаливания уменьшается содержания свободной воды, а излишняя влажность осенней почвы затрудняет процесс, повышая вероятность образования внутриклеточного льда и гибели растений [25].

Метаболические изменения в первой фазе вызваны изменением гормонального и энергетического баланса, это и определяет синтез и активацию специфических ферментов. Абсцизовая кислота, накопившаяся в тканях, увеличивает проницаемость мембран для воды. К концу первой фазы закаливания, зимующие растения приходят в состояние покоя. Однако, процессы, протекающие в них, продолжают [25].

Вторая фаза закаливания, начавшаяся сразу же после первой при температуре ниже 0°C не требует света. Для большинства травянистых растений она протекает под снежным покровом. Ее продолжительность составляет порядка двух недель при постепенном снижении температуры до $-10... -20^{\circ}\text{C}$ и ниже со скоростью $2-3^{\circ}\text{C}$ в сутки. Это приводит к частичному освобождению клеток тканей от избыточного содержания воды или

витрификации, переходу ее в стеклообразное состояние. Явление витрификации наступает при резком понижении температуры (ниже -20°C) [26].

Стеклообразная растительная ткань в состоянии долго сохранять свою жизнедеятельность. Образование льда в межклеточниках позволяет включить механизмы предохраняющие растение от чрезмерного обезвоживания, а накопившиеся сахара изменяют устойчивость биокolloидов цитоплазмы к низким температурам, в связи, с чем возрастает количество коллоидно-связанной воды.

Вторая фаза, обеспечивает отток из цитозоля клеток воды, которая может замерзнуть при отрицательной температуре. Критические температуры ухудшают отток воды из клеток, что приводит к накоплению большого количества переохлажденной воды, которая способна замерзнуть внутри протопласта и привести к гибели клеток. Следовательно, у менее морозоустойчивого растения, вторая фаза закаливания должна проходить медленнее [26].

Действующие факторы второй фазы закаливания:

- обезвоживание, вызывающее сближение молекул в цитозоле, вязкость которого соответственно увеличивается;
- низкая температура, уменьшающая тепловое движение молекул в протопласте.

Результат второй фазы закаливания выражен перестройкой белков цитоплазмы, накоплением низкомолекулярных водорастворимых белков, наиболее устойчивых к обезвоживанию и синтез специфических. Содержание незамерзающей (связанной) воды в тканях зимостойкой пшеницы почти в 3 раза превышает показатели не зимостойкой.

Перестройка цитоплазмы увеличивает ее проницаемость и способствует более быстрому оттоку воды в межклеточники, что снижает внутриклеточное льдообразование. При обезвоживании наблюдаются сближение и деформация белковых молекул и связей, что губительно для клетки.

Очевидно, что происходящее быстрое смещение структурных частиц приводит к разрушению субмикроскопической структуры протопласта.

Цитоплазма закаленных растений более устойчива к механическому давлению, так как наличие у молекул белков сульфгидрильных и гидрофильных группировок способствуют удержанию воды, тем самым препятствуют сближению молекул белка. Между содержанием сульфгидрильных групп и морозоустойчивостью клеток растений обнаружена положительная связь. Именно изменение свойств молекул белков и межмолекулярных связей, а также их обезвоживание в процессе закаливания приводит к переходу содержимого цитоплазмы из состояния золя в гель.

Первая фаза закаливания повышает морозоустойчивость растений с -5 до -12°C , вторая увеличивает морозоустойчивость, например, у пшеницы до $-18... -20^{\circ}\text{C}$, у ржи – до $-20... -25^{\circ}\text{C}$. Растения в глубоком органическом покое выдерживают промораживание до -195°C . Так, черная смородина в состоянии глубокого покоя и завершения первой фазы закаливания переносит охлаждение до -253°C [26].

Однако, процесс закаливания в две фазы проходит не у всех растений. У древесных растений с достаточным содержанием сахаров в тканях, протекают процессы, свойственные второй фазе закаливания. Как было сказано выше, далеко не все растения подвержены закаливанию и большинство теплолюбивых растений (хлопчатник, рис, бахчевые культуры) при длительном пребывании при температурах немного выше 0°C повреждаются сильнее и даже погибают. Это связано с накоплением ядовитых веществ, усиливающих губительное действие.

Обратимость процессов закаливания

При прохождении фаз закаливания формируется устойчивость растений к холодам. Морозоустойчивость – это процесс, а не постоянное свойство и является обратимым. Развитие данного процесса зависит от условий протекания. Заметное влияние оказывают условия осеннего периода, определяемые соотношением ясных дней и пониженными положительными

ми температурами ночью с числом пасмурных, дождливых дней и относительно высокими температурами дневного и ночного времени. Более высокие соотношения создают лучше условия закаливания. Хорошо закаленные растения благодаря высокой концентрации клеточного сока, пониженному содержанию воды образуют меньшее количество кристаллов льда в межклеточниках и как правило погибают только в сильные морозы. При неустойчивой осенней и зимней погоде приобретенная в процессе закалки морозоустойчивость снижается, это подтверждает обратимость процесса [14].

Наблюдения подтвердили тесную связь между морозоустойчивостью и ростовыми процессами. Переход к состоянию покоя сопровождается повышением устойчивости, а рост характеризует снижение, следовательно морозоустойчивость одного и того же вида растений может меняться в течение года: летом показатели минимальны, осенью увеличиваются, а в конце зимы и в начале весны опять снижаются. Повышенная весенняя температура сопровождается противоположным физиолого-биохимическим изменением – раз закаливанием растений, что может привести к гибели растений от незначительных заморозков [14].

1.5. Пигменты и их характеристики

Громадную роль в жизни растений играют пигменты. Словом «пигмент» обозначают всевозможные вещества, имеющие ту или иную окраску. Именно пигменты могут быть использованы в процессе фотосинтеза для того, чтобы свет мог оказывать влияние на растительный организм. Пигменты поглощают свет определенной длины волны. Непоглощенные участки солнечного спектра отражаются, что обуславливает окраску пигментов[12].

Пигменты, сконцентрированные в пластидах можно разделить на три группы: хлорофиллы, фикобилины, каротиноиды. В основу классификации пигментов легло химическое строение их молекул. Все пигменты пластид подразделяются на азотосодержащие и без азотистые. Азотосодержащие пигменты охватывают все те соединения, в молекулу которого

входит пиррольное кольцо, а к без азотистым – пигменты с полиеновой структурой. Азотосодержащие подразделяются на пигменты, в молекулу которых входит магний в виде комплекса и на не содержащие металлы соединения [12].

Важную роль в процессе фотосинтеза играют зеленные пигменты – хлорофиллы. В настоящее время известно около десятка хлорофилла. У всех высших зеленых растений содержится хлорофилл *a* и *b*; хлорофилл «с» – в диатомовых водорослях, хлорофилл *d* – в красных водорослях. В результате специальных исследований удалось установить, что листья высших растений содержит 4 пигмента – два хлорофилла (*a* и *b*) и два каротиноида (каротин и ксантофилл) [12].

Впервые вывели зеленое вещество из листьев и назвали его хлорофиллом (от греч. *chloros* – зеленый и *phyllon* – лист) французские химики–фармацевты Ж. Пельтьеи, Ж. Каванту. Это открытие было ими сделано случайно в процессе поиска новых лекарственных средств из различных растений. В кристаллическом виде хлорофилл был впервые получен русским физиологом и ботаником И.П. Бородиным.

Польские биохимики Марцелл Ненцкий и Леон Мархлевский показали, что основу молекулы хлорофилла, как и гемоглобина, составляет порфириновое кольцо. Элементный химический состав хлорофилла «а» и «b» был определен немецким химиком Рихардом Вальштеттером. Он не только выделил хлорофилл *a* и *b* и установил их химический состав, но также доказал, что у всех растений, независимо от условий обитания, хлорофилл совершенно одинаково.

Структурная формула хлорофилла *a* и *b* была установлена немецким химиком Гансом Фишером, который получил Нобелевскую премию за расшифровку структуры гема и выявил, что гемоглобин состоит из белка глобина и красителя гема. Исключительный интерес к изучению хлорофилла связан с тем, что этот пигмент поглощает солнечную энергию и осуществляет фотосинтез – основной процесс, обеспечивающий образова-

ние органических соединений освобождение молекулярного кислорода на планете. Зеленый цвет хлорофилла зависит от непоглощенных зеленых лучей. Молекула хлорофилла обуславливает окраску практически всей растительности, превращает энергию солнечных лучей в энергию органических связей. Зеленый пигмент не является химически индивидуальным веществом. Он состоит из двух соединений: сине-зеленого хлорофилла *a* ($C_{55}H_{72}O_5N_4$) желто-зеленого хлорофилла *b* ($C_{55}H_{70}O_6N_4$), отличающихся различной степенью окисления, окраской и другими свойствами [25].

В спектре поглощения хлорофилла *a* и *b* два ярко выраженных максимума: в красной 660 и 640 нм, в сине-фиолетовой 430 и 450 нм. В живом спектре поглощения хлорофиллов более широкий и выровненный. Лучи в области 400–750 нм, т.е в зоне поглощения хлорофилла, можно назвать фотосинтетически активными. У хлорофилла *a* поглощение в сине-фиолетовом происходит примерно в 1,3 раза больше чем красных, а у хлорофилла *b* – в 3 раза. По сравнению с хлорофиллом *b* хлорофилла более устойчив к воздействию тепла. В живом зеленом листе лучи поглощаются также и другими веществами, что в результате влияет на спектр поглощения живого листа.

В хлоропластах постоянно происходит распад старых и синтез новых молекул хлорофилла. Скорость обновления хлорофилла *a* приблизительно в 3 раза выше, чем у хлорофилла *b*. Используя в пищу зеленные растения, человек употребляет много хлорофилла. В организме человека и животного хлорофилл способствует образованию гемоглобина – пигмента крови – и может быть использованы в медицине как ценное терапевтическое средство. В сельском хозяйстве широко используют зеленый корм, для употребления хлорофилла и витаминов используют зеленую хвою. Хлорофилл вводят в зубные пасты. Препараты хлорофилла могут использоваться в качестве зеленого красителя для окрашивания конфет, кондитерских изделий, ликеров и других пищевых продуктов, а так же в парфюмерном производстве.

Каротиноиды – обязательные компоненты пигментных систем фотосинтезирующих организмов. Они выполняют ряд функций, главные из которых:

1. Участие в поглощении света в качестве дополнительных пигментов.
2. Защита молекул от необратимого фотоокисления.

Возможно, каротиноиды принимают участие в кислородном обмене при фотосинтезе. Важное значение каротиноидов как дополнительных пигментов, поглощающих свет в сине-фиолетовой части спектра, становится очевидным, при рассмотрении энергии в спектре суммарной солнечной радиации на поверхности земли [29].

В естественных условиях доходящая до поверхности земли суммарная радиация складывается из потока прямой солнечной радиации на горизонтальную поверхность и рассеянной радиации неба. Рассеивание света в атмосфере происходит благодаря аэрозольным частицам и флуктуациям плотности воздуха. Спектральный состав суммарной радиации в области обуславливается тем, что увеличение доли красных лучей в прямой солнечной радиации при низком состоянии солнца сопровождается увеличением доли рассеянного света, в котором много сине-фиолетовых лучей.

Атмосфера земли в значительной степени рассеивает лучи коротковолновой части спектра, поэтому небо выглядит голубым. При отсутствии прямого солнечного света увеличивается доля сине-фиолетовых лучей. Эти данные указывают на важность коротковолновой части спектра при использовании наземными растениями рассеянного света и возможность участия каротиноидов в фотосинтезе в качестве дополнительных пигментов.

Вторая функция каротиноидов – защитная. Впервые данные о том, что каротиноиды могут защищать молекулу хлорофилла от разрушения, были получены Д.И. Ивановским. В его опытах пробирки, содержащие одинаковый объем хлорофилла и разные концентрации каротиноидов, выставлялись на 3 часа на прямой свет. Оказалось, что чем больше было ка-

ратиноидов в пробирке, тем в меньшей степени разрушается хлорофилл. В дальнейшем эти данные получили многочисленные подтверждения [29].

В настоящее время доказано, что каратиноиды способны реагировать с хлорофиллом, находящимся в триплетном состоянии, предотвращая его необратимое окисление. При этом энергия триплетного состояния хлорофилла превращается в теплоту.

Кроме каратиноидов, взаимодействуют с возбужденным кислородом, который не специфически окисляют многие органические вещества, могут переводить его в основное состояние.

1.6. Действие ультрафиолетового излучения на клетку

Наибольший интерес в изучении коротковолнового излучения на организм представляет воздействие ультрафиолетовых лучей на биополимеры – белки и нуклеиновые кислоты. В ходе исследований стало известно, что молекулы биополимеров, содержащие кольцевые группы молекул углерода и азота интенсивно поглощают волны длиной 260–280 нм. Поглощенная энергия мигрирует по цепи атомов в пределах молекулы без потерь. Однако, достигнув слабых связей между атомами, способна разрушит связь [31]. Такой процесс, называемый фотолизом, образует осколки молекул, которые оказывают сильное действие на организм в целом. В биополимерах под действием ультрафиолетовых лучей происходит денатурация. При облучении светом определенной длины волны электрический заряд молекул уменьшается, они слипаются и полностью теряют свою активность: ферментную, гормональную, антипенную и пр. Процессы фотолиза и денатурации белков параллельны и независимы друг от друга. Фотолиз вызывается диапазоном излучения в 280–302 нм, а денатурация происходит при 250–265 нм. Самой чувствительной функцией клетки к действию ультрафиолетовых лучей является деление. Облучение в дозе 10 (19) дж/м² вызывает остановку деления 90% бактериальных клеток, без прекращения дальнейшего роста и жизнедеятельности. Со временем про-

цесс деления способен к восстановлению. Доза облучения до 10(18) дж/м² вызывает гибель 90% клеток, подавление синтеза нуклеиновых кислот и белков, а также образование мутаций. Ультрафиолетовые лучи способны вызвать изменения, влияющие на рост, деление, наследственность клеток, т.е. на основные факторы проявления жизнедеятельности [31].

Каждая молекула ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты) уникальна – это наследственная память клетки, в которой заключена информация о структуре, строении и свойствах всех клеточных белков. Если любой белок живой клетки представлен десятками и сотнями одинаковых молекул, ДНК хранит информацию об основном устройстве клетки, а также характере и направлении процессов обмена веществ.

В связи с выше сказанным нарушения в структуре ДНК могут оказаться непоправимыми и привести к серьезным нарушениям жизнедеятельности организма.

Влияние УФ радиации на содержание фотосинтетических пигментов.

Основным жизненным процессом растений является фотосинтез, который экологически весьма лабилен. Результатом адаптации ассимиляционной деятельности растений к условиям среды, порой даже экстремальным соответствует интенсивность продукционных процессов, а также уровень их биологической продуктивности. Они необходимы как для успешного выживания, с учетом высокой конкуренции видов, так и для стабильного существования экосистемы [10].

Содержание пигментов в зелёных листьях – это наиболее яркая характеристика адаптации фотосинтезирующего аппарата к солнечному лучу. Тесная связь количества пигментов в листьях и световой режим местобитания, была отмечена в классических работах В.П. Любименко.

Разрушение озонового экрана неизбежно приведет к повышенному проникновению сквозь атмосферу богатой энергии ультрафиолетовой радиации. Адапционно-защитная реакция на действие ультрафиолетовых лучей, это способность к резкому изменению уровня содержания пигментов [10].

Первые результаты исследований, направленные на выявление действий УФ радиации на пигменты показывают их высокую устойчивость в пластидах. Однако, последующие работы, связанные с изучением флуоресценции хлорофилловых зерен в пластидах при ультрафиолетовом облучении показали высокую чувствительность молекул хлорофилла к ультрафиолету.

Наибольшей разрушительной силой хлорофилла обладают ультрафиолетовые лучи с длиной волны короче 350 нм, как для зелёных водорослей, так и для высших растений, где решающую роль зависит от условий культивирования растений, в особенности температуры. Из фотосинтезирующих пигментов хлорофилл *b* и ксантофиллы разрушаются меньше, чем хлорофилл *a* и каротиноиды.

Однако, следует учесть, что различия, а также степень устойчивости хлорофилла к разрушению, связаны с особенностями физиологического состояния листьев. Это подтверждено данными, согласно которым, в хлоропластах некоторых типов может находиться лабильное вещество, фотохимическое изменение которого, окисление или разрушение и определяется типом растения.

По мнению исследователей, ни теория экрана, то есть эпидермиса, ни защитная роль каротиноидов, а также концентрационная теория не достаточны для пояснения типов реакции, без учета признания физиолого-биохимических особенностей. Не отрицая роль морфологических структур листа в устойчивости пигментных систем, следует отметить проницаемость эпидермиса листьев растений и оболочки семян для средне- и длинноволновых ультрафиолетовых – излучений. Повреждаемость пигментов можно определить мощностью ультрафиолетового излучения, с учетом температуры, при которой она проводится [12].

ГЛАВА 2. ВЛИЯНИЕ ЗАКАЛИВАНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ И УСТОЙЧИВОСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА И ТОМАТА К ДЕЙСТВИЮ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

2.1. Краткая биологическая характеристика изучаемого объекта

Объектами исследования служили:

1. огурец сорта «конкурент»
2. томат сорта «бычье сердце».

1. Огурец сорта «Конкурент» – длиноплетистый сорт огурца. Растение маловетвистое, лист среднего размера, зеленый. Цветение смешанное.

Огурцы цилиндрические со слегка заостренными концами. Бугорки крупные, их сравнительно немного, опушение черное. От верхушки отходят светлые полосы, длина которых составляет около трети длины зеленца. Длина зеленцов 9–12 см, масса: 70–100 граммов. Кожица сравнительно толстая: огурцы пригодны для соления и маринования.

Огурец «Конкурент» районирован по Северо-Кавказскому региону как сорт для товарного выращивания в открытом грунте. Сорт пчелоопыляемый. На главном стебле формируются преимущественно мужские цветки: поэтому для получения большого урожая необходимо, чтобы растение сформировало мощные боковые побеги. Обычно они начинают формироваться довольно рано, но если после появления на главном стебле шестого листа боковых побегов все еще нет, его верхушку следует прищипнуть. Более точных рекомендаций по агротехнике сорта, к сожалению, нет.

Сорт считается раннеспелым, однако данные по срокам плодоношения противоречивы. Вероятно, это связано с разными климатическими условиями, в которых садоводы-любители выращивают «Конкурент». В среднем от появления всходов до первых товарных плодов проходит 45–52 дня.

Есть сахар, имеются белок и витамины (С, В₁, В₂). Много каротина и фолиевой кислоты, а так же хлорофилла.

2. Томат сорта «Бычье сердце» – мясистый помидор, он больше всего подходит по вкусу средиземноморскому сорту томатов. И при этом плоды обычно имеют неправильную форму, содержат небольшой объем жидкости в сравнении с другими сортами и поэтому они имеют сладкий вкус. Растение этого сорта является раскидистым, детерминантным, сильнорослым кустом, его высота от 150 до 170 см. Если помидоры выращивать в открытом грунте, то средняя урожайность с одного куста составляет 3,5–5 кг, а если выращивать в теплицах или парниках, то с куста можно собрать 8–12 кг томатов. «Бычье сердце» – это сорт среднеспелых томатов. После прорастания всходов, созревание плодов наступает на 124–132 день. Особенности сорта является то, что на одном кусте растут помидоры разной формы и массы: на нижних соцветиях может вырасти до трёх крупных плодов, а уже на остальных соцветиях образуются мелкие плоды овальной формы. Этот сорт имеет темно-малиновый окрас. Селекционеры вывели очень много подвидов «Бычьего сердца». Бывают не только сорта с красным окрасом, но еще и с розовым, желтым, белым и черным [16].

2.2. Схема опыта

Эксперимент проводился на кафедре общей биологии и физиологии естественно-технологического факультета. Для решения поставленных задач были проведены серии опытов.

В первую часть эксперимента вошла закалка семян, при соблюдении определенного температурного режима и временного отрезка. Затем высадку семян произвели в вегетативные сосуды

Вторая часть эксперимента состояла в обработке растений в фазу всходов ультрафиолетовым излучением.

1 серия опытов

1 вариант-контроль

2 вариант – закаливание семян при температуре +5°C (в течение 6, 12, 24 часов)

3 вариант – закаливание семян при температуре +8°C (в течение 6, 12, 24 часов)

2 серия опыта

1 вариант – контроль

2 вариант – облучение в течение 5 минут

2.3. Методы исследования

Интенсивность фотосинтеза напрямую зависит от концентрации (содержания) фотосинтетических пигментов, из соединения которых определялось спектрофотометрическим методом по методике на спектрофотометре СФ-26 в спиртовых растворах пигментов (этанол 96%). Концентрацию пигментов рассчитывали по формулам:

а) для хлорофиллов

$$C_{\text{хл.а}} = 13,70 * D_{665} - 5,76 * D_{649}$$

$$C_{\text{хл.б}} = 25,80 * D_{649} - 7,66 * D_{665}$$

$$C_{\text{хл.а+хл.б}} = 6,10 * D_{665} + 20,04 * D_{649}$$

б) для каротиноидов

$$C_{\text{кар}} = \frac{1000 * D_{449,5} - 0,52 C_{\text{хл.а}} - 7,25 C_{\text{хл.б}}}{226}$$

Содержание пигментов в растительном материале в мг/г сырого веса рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{C * V}{P * 1000} \text{ (мг/г. с. в.)}, \text{ где}$$

C– концентрация пигмента в мг/л;

V– объем вытяжки пигмента в мл;

P– навеска растительного материала в г;

A– содержание пигмента в растительном материале в мг/л сырого веса.

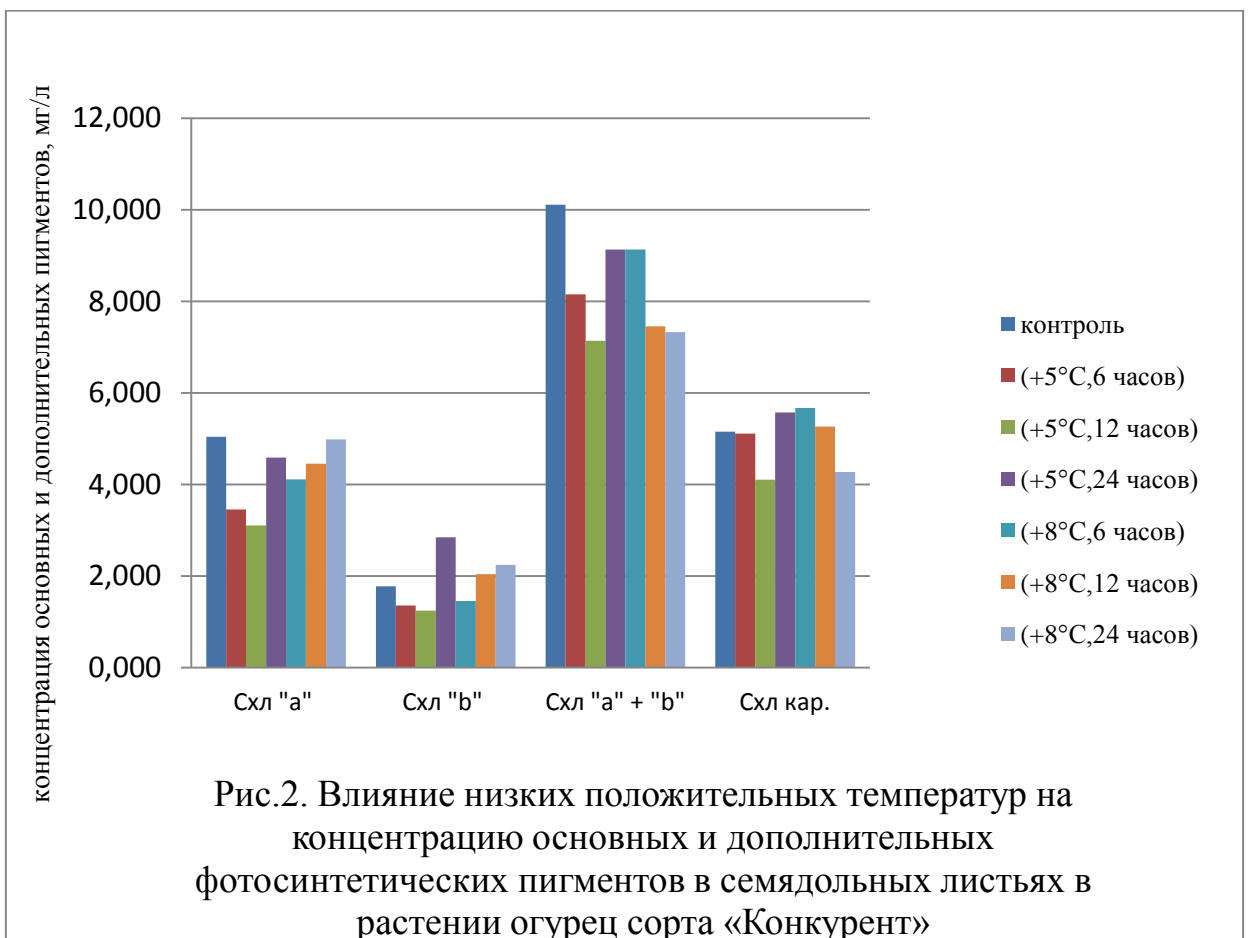
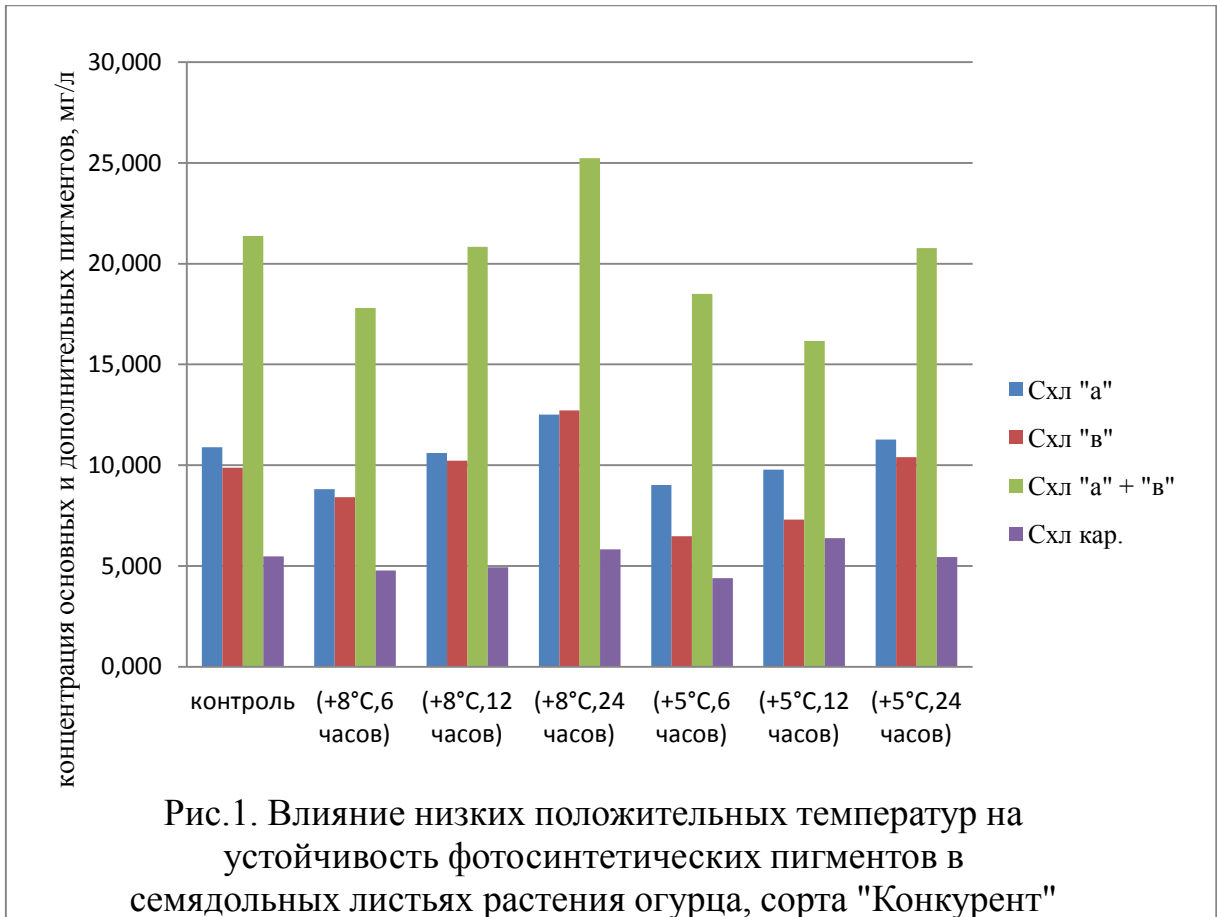
Результаты опытов обрабатывались статистически. Все опыты на содержание основных и дополнительных пигментов проведены в трёх кратких аналитических повторностях [23].

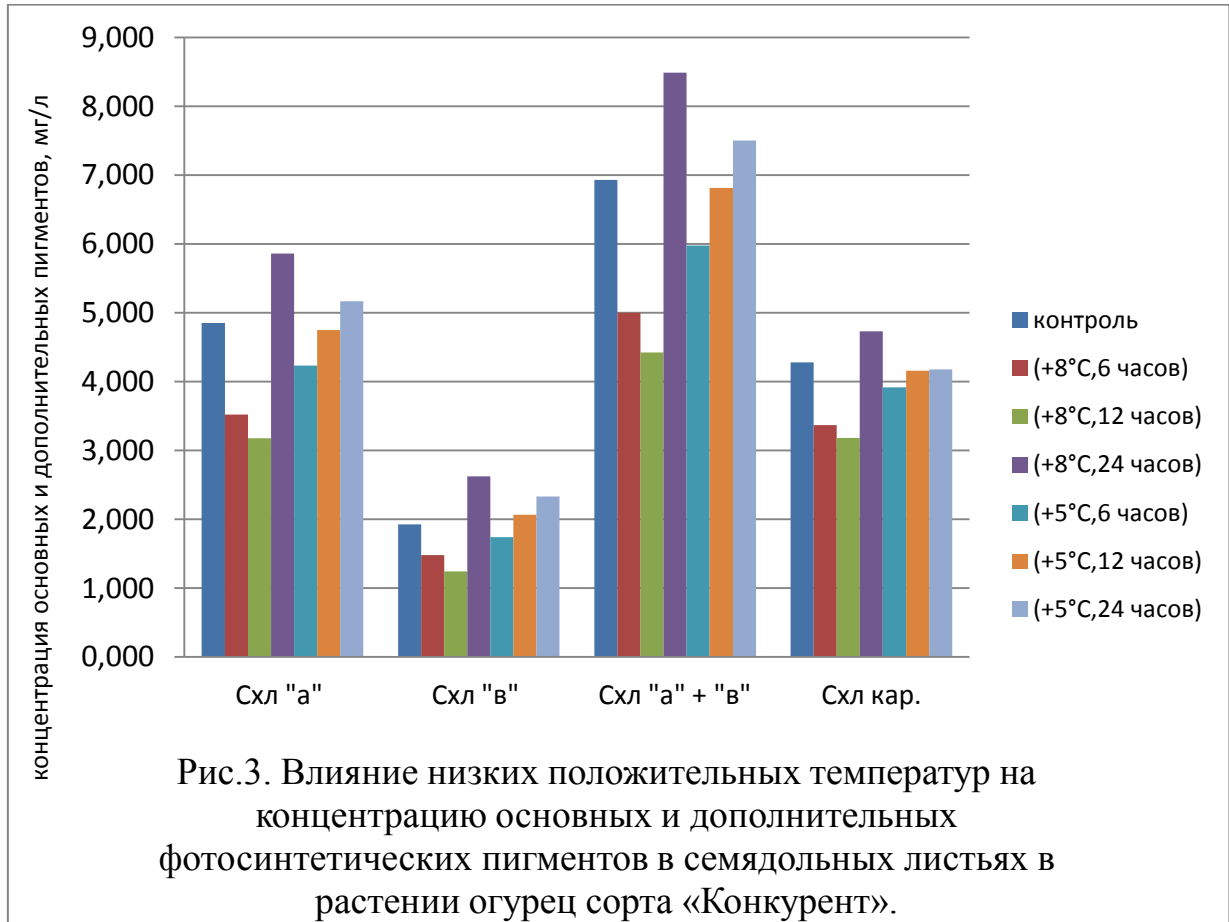
2.4. Влияние низких положительных температур на устойчивость фотосинтетических пигментов растений огурца и томата к действию ультрафиолетового излучения

Продуктивность растительного организма определяется напряжённостью физиолого-биохимических процессов, которые в свою очередь регулируются как внешними, так и внутренними факторами. Ведущая роль среди внутренних факторов принадлежит процессу фотосинтеза, непрерывно связанному с многочисленными реакциями энергетического и пластического обмена.

Эволюция фотосинтеза во многом предопределила не только высокий уровень организации растений, но и во всех других организмов на Земле. Появление различных модификаций световых и темновых реакций явились одним из ответов на изменяющиеся условия внешней среды и позволили занять растительным организмам различные экологические ниши.

Исследования влияния низких положительных температур на устойчивость пигментов фотосинтетического аппарата в семядольных листьях растения огурец сорта «Конкурент» представлены на рисунках 1, 2, 3.





Как видно из рисунков содержание основных и дополнительных пигментов не остается постоянным в течение 7 дней.

Воздействие низкими положительными температурами $+5^{\circ}\text{C}$ и $+8^{\circ}\text{C}$ при более коротких экспозициях в течении 6 и 12 часов, отмечается снижение основных пигментов. При обработке семян более низкой температурой $+5^{\circ}\text{C}$ и при более длительной экспозиции 24 часа не сказалось на содержание пигментов, а при более высокой температуре закаливания $+8^{\circ}\text{C}$ повысилась концентрация хлорофиллов по сравнению с контрольным вариантом опыта. Содержание дополнительных пигментов приблизительно на уровне контроля.

На рисунке 2 видно, что через сутки после воздействия ультрафиолетовой радиации на семядольные листья растения огурца концентрация хлорофиллов проявила себя по-разному в разных вариантах опытов. Так

наибольшая концентрация хлорофиллов по сравнению с контрольным вариантом опыта наблюдается у пигментов $a+b$ в вариантах опытов при температуре $+5^{\circ}\text{C}$, времени экспозиции 24 часа и $+8^{\circ}\text{C}$, времени экспозиции 6 часов. Наименьшее значение этих пигментов наблюдается при температуре $+5^{\circ}\text{C}$, времени экспозиции 12 часов.

Содержание дополнительного пигмента каротиноида выше контрольного опыта в варианте где растения обрабатывались температурой $+8^{\circ}\text{C}$, времени экспозиции 6 часов. Каротиноиды выполняющие защитную и свет собирающую функцию показали, что их концентрация повысилась по сравнению с теми растениями где на них не было воздействия как со стороны низких положительных температур так и со стороны ультрафиолетового излучения.

На рисунке 3, на седьмой день пробы концентрации всех пигментов при температуре $+8^{\circ}\text{C}$ и времени экспозиции 24 часа увеличивается по сравнению с контрольным вариантом опыта. Если рассматривать концентрацию хлорофиллов a и b , то концентрация хлорофилла a больше в 3,5 раза. Кроме зеленых пигментов важную роль в процессе фотосинтеза играют каротиноиды. А содержание каротиноидов в листьях растений на седьмой день имели тенденцию к увеличению их концентрации в листьях растения.

Исследования результатов влияния низких положительных температур на устойчивость пигментов фотосинтетического аппарата в семядольных листьях растения томата сорта «Бычье сердце» представлены на рисунках 4, 5, 6.

Содержание всех пигментов в листьях томата по сравнению с контрольным вариантом опыта практически на одном уровне. А на рисунке 4 показано, что концентрация пигментов $a+b$ больше примерно на 0,100 мг/л на концентрации контрольного варианта опыта, в варианте при температуре $+5^{\circ}\text{C}$, времени экспозиции 6 и 12 часов.

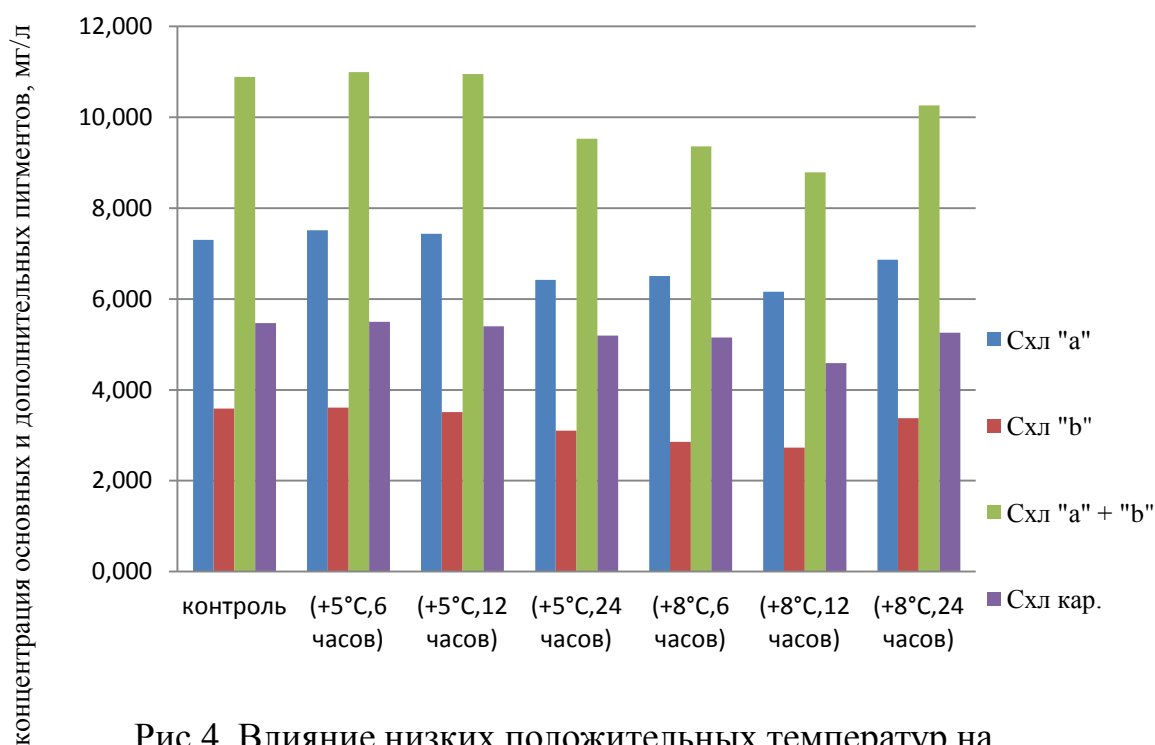


Рис.4. Влияние низких положительных температур на устойчивость фотосинтетических пигментов в семядольных листьях растения отомат, сорта "Бычье сердце"

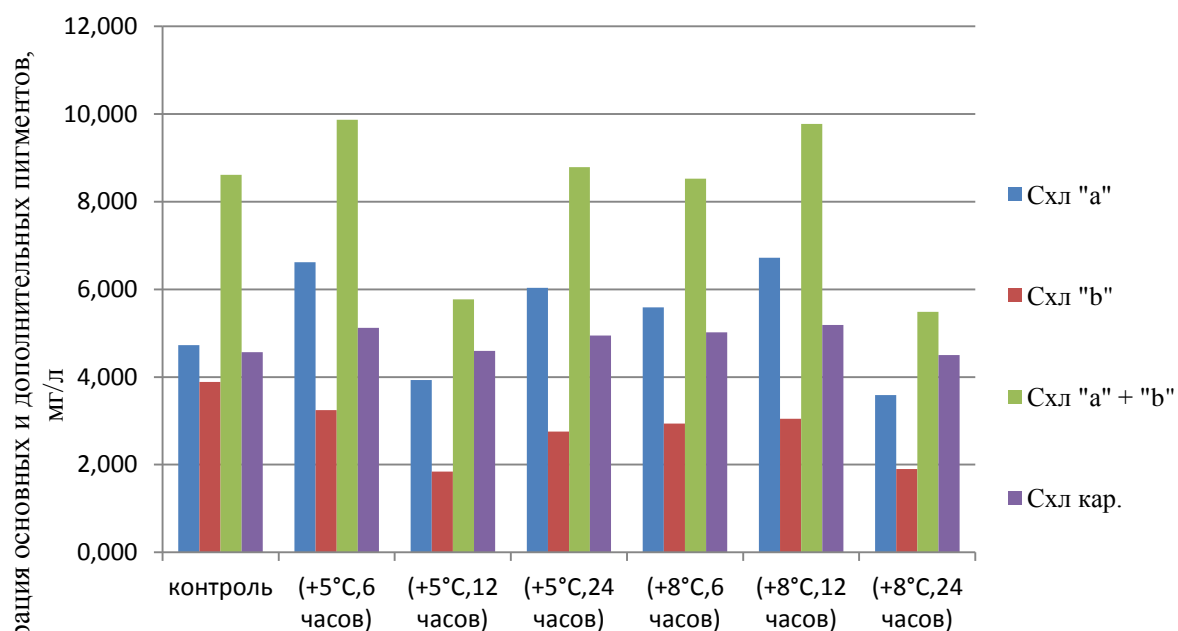
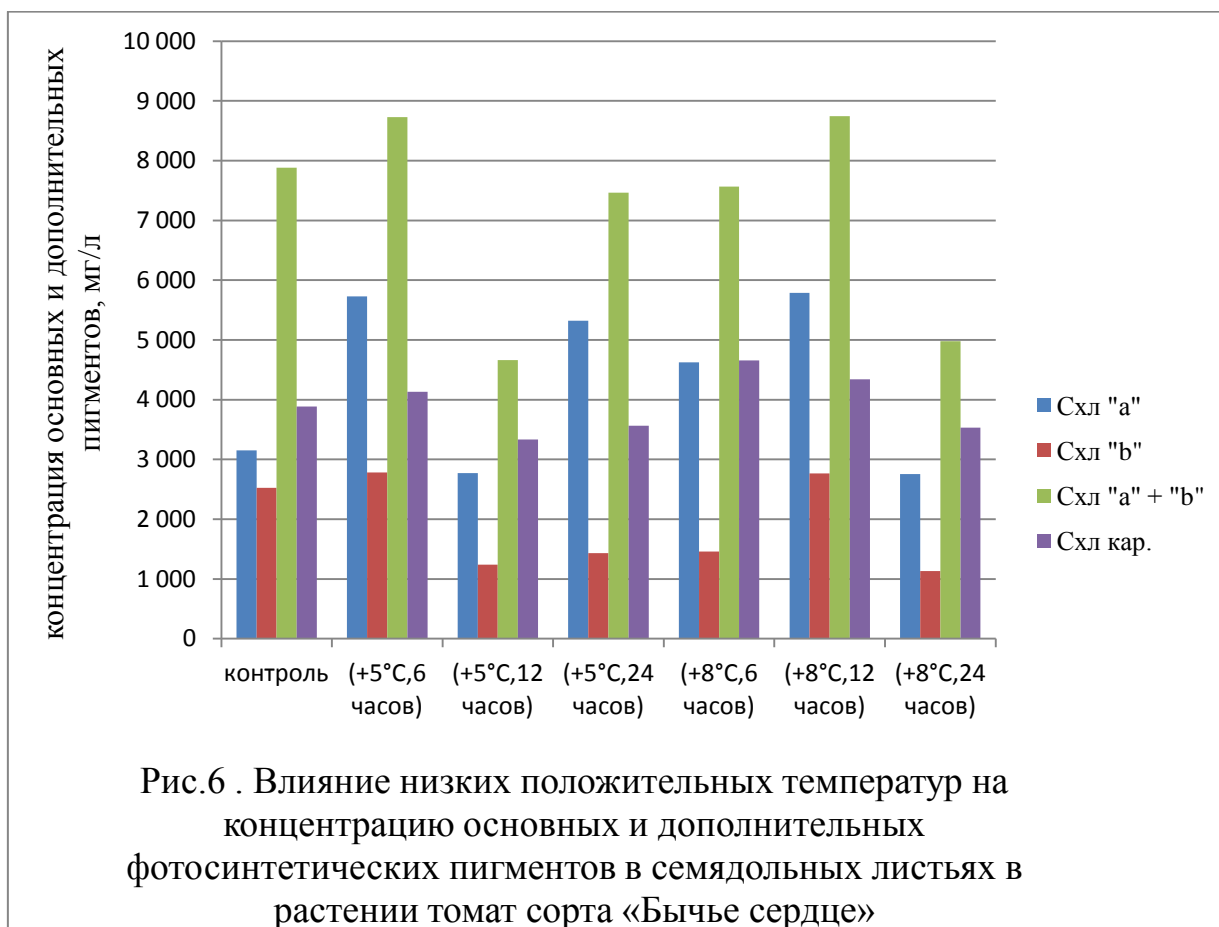


Рис.5 . Влияние низких положительных температур на концентрацию основных и дополнительных фотосинтетических пигментов в семядольных листьях в растении томат сорта «Бычье сердце»



На следующем рисунке 5, видно, что содержание каротиноидов и хлорофилла *a* стало увеличиваться, наибольшие показатели стали в варианте опыта +5°C, времени экспозиции 6 часов практически на одном уровне по показаниям идет вариант опыта с температурой +8°C, время экспозиции 12 часов.

На седьмой день концентрация хлорофилла так же снижалась, но содержание пигментов *a+b* каротиноидов выше контрольного опыта. Так же увеличение содержания каротиноидов в листьях может быть связано с защитной функцией. Наименьшим содержанием пигментов отмечается у варианта опыта при температуре +5°C, время экспозиции 12 часов и при температуре +8°C, время экспозиции 24 часа.

Исходя из результатов исследования можно, сказать, что каротиноиды которые находятся в листьях растений преимущественно в мембранах

хлоропласта, имеют две функции: собирают свет и защищают от ультрафиолета. Поглощают пигменты каротиноиды свет в сине-фиолетовой области (350–500 нм), где хлорофиллы поглощают мало, они являются дополнительными сборщиками световой энергии.

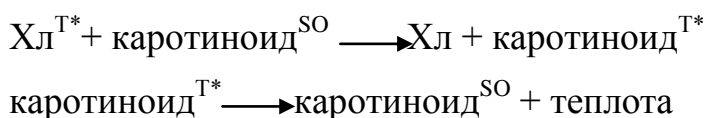
Так же каротиноиды, в частности β -каротин, является самым распространённым метаболитом живых организмов, участвующих в системе защиты клеток от воздействия абиотических факторов среды.

Зная, важную роль каротиноидов в устойчивости клеток к экстремальным воздействиям представлялось важным изучение их динамики в зависимости от влияния на растения различными факторами.

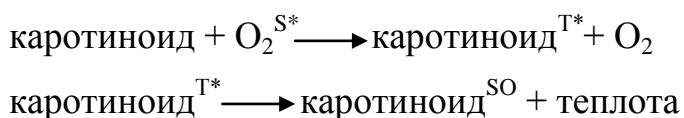
Содержание желтых пигментов – каротиноидов имеет те же закономерности изменения, как у зеленых пигментов. Результаты полученные в исследовании говорят о том, что количество каротиноидов в течении семи дней изменяется в меньшей степени (в пределах от 5,48 до 4,99 мг/л у огурцов и от 5,46 до 3,34 мг/л у томатов)

Функции каротиноидов в фотосинтезе обсуждается уже много лет, но однозначного решения этой проблемы, как оказалось, не существует. Всегда остается открытым вопрос: зачем фотосинтетической системе такой богатый набор каротиноидов. Одна функция β -каротиноидов – защитная, т.е. предохранение хлорофиллов свет собирающей антенны ФС II от фотодеструкции, была известна еще на первых этапах исследования фотосинтеза, β -каротиноиды выполняют также роль структурного компонента кислород выделяющей системы, соединяющей P_{680} и марганцевый комплекс. Этот же каротиноид служит проводником электронов от выше указанного комплекса к P_{680} – участие в переносе электрона и определённая локализация в кислород выделяющей системе требует высокой степени ориентации β -каротиноидов в структуре хлоропластов. По данным работ Д.О. Сапожникова β -каротиноиды распределены не беспорядочно на внешней поверхности мембраны, а доменами, или функциональными единицами. Участие в трансформации энергии и защитную функцию связы-

вают с триплетным состоянием каротиноидов. При этом энергия триплетного возбужденного состояния хлорофилла превращается в теплоту:



Кроме этого каротиноиды взаимодействуют с возбужденным (синглетным) кислородом, который не специфически окисляет многие органические вещества, могут переводить его в основное состояние:



Таким образом, полученные нами данные позволяют заключить, что динамика зеленых и желтых пигментов в зависимости от факторов имеет прямую направленность. По мере увеличения времени экспозиции растений в холоде содержание обоих форм хлорофилла и каротиноидов увеличивается. Сопоставление и анализ этих результатов и литературных данных позволяет предположить, что каротиноиды при обработке семян низкими положительными температурами выполняют не только фотосинтетическую функцию, но и защитную— переводя энергию квантов синевioletовых лучей в теплоту. Желтые пигменты, по—видимому, наряду с белками холодного шока являются элементами термогенеза в растительных клетках.

ГЛАВА 3. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МАТЕРИАЛА В ШКОЛЬНОМ КУРСЕ

Возрастные и индивидуальные особенности учащихся одной из эффективных форм работы по изучению экологии является исследовательская деятельность, в ходе которой происходит непосредственное общение обучающихся с природой, приобретаются навыки научного эксперимента, развивается наблюдательность, пробуждается интерес к изучению конкретных экологических вопросов.

Ориентированность школ на экологическое воспитание детей в природной обстановке позволяет ученикам активно приобщаться к исследовательской работе по изучению природных сред и экосистем своего родного края, побуждает к участию в экологических конкурсах, олимпиадах, научных конференциях, летних лагерях, экологических экспедициях, обмениваются результатами исследований через современные телекоммуникационные средства.

Задача общеобразовательной школы состоит не только в том, чтобы сформировать определенный объем знаний по экологии, но и способствовать приобретению навыков научного анализа явлений природы, осмыслению взаимодействия общества и природы, осознанию значимости своей практической помощи природе [23].

Формирование таких качеств у школьников особенно эффективно происходит в процессе самостоятельной поисково-исследовательской деятельности.

Исследовательская деятельность – один из методов проблемного обучения. Проведение данной деятельности поможет подростку реализовать свои возможности, даст возможность лучше ориентироваться в учебном материале не только по географии, но и по другим дисциплинам. Предполагается, что участники экспедиции подростки 13–15 лет.

Организация исследования – один из важных этапов в деятельности школьников, так как позволяет применить полученные знания на практике.

Проведение лабораторного занятия

Для организации проведения исследований ставится цель и задачи для учеников:

Цель работы: определить степень влияния ультрафиолетовых лучей на примере растения огурца.

Задачи:

1. Ознакомиться с методикой определения фотосинтетических пигментов, описанной Гавриленко В. Ф. и Ладыгиной М.Е.
2. Научиться работать на спектрофотометре СФ-26
3. Составить отчёт о проделанной работе.

Методы работы: В спиртовой вытяжке определяются количественно хлорофилла *a, b* и каротиноиды спектрофотометрическим способом. Вся подготовительная работа с пигментами ведется в затемнённом помещении, на холоде. Реактивы:

1. 96%–ный этанол
2. CaCO_3 , MgCO_3 или 1н вор NH_4OH

Оборудование:

1. Фарфоровые ступки и пестики
2. Мерные пробирки на 50 мл
3. Маркер по стеклу
4. Аналитические весы
6. Спектрофотометр СФ–26
7. Штатив для пробирок
8. Стеклянная палочка
9. Воронка
10. Стеклянный фильтр
11. Вакуумный насос

Ход работы:*1. Подготовительный этап.*

Отбор образцов для исследования (растение огурец)

2. Получение вытяжки.

Навески свежего растительного материала (200 мг) в трех повторностях тщательно растирают в фарфоровой ступке с небольшим количеством 96%-ного этанола, чистого мела. Экстракт осторожно сливают в мерную пробирку на 25 мл.

3. Определение содержания фотосинтетических пигментов.

Концентрация пигментов в вытяжке может быть определена на фотоэлектроколориметре по калибровочной кривой или непосредственно на спектрофотометре СФ-26 с использованием для расчета концентрации пигментов соответствующих формул Вернера, Третьякова.

Для количественного определения часть полученного экстракта наливают в кюветку спектрофотометра. Вторая кювета заполняется чистым растворителем (96%-ным этанолом). Кюветы помещают в кюветную камеру спектрофотометра и определяют оптическую плотность (D) при длинах волн, соответствующих максимумам определяемых пигментов.

Концентрация отдельных пигментов (хлорофиллов a и b) определяется двуволновым методом в общей смеси пигментов и сводится, таким образом, к следующему: с помощью спектрофотометра устанавливается величина оптической плотности (D) суммарной вытяжки пигментов при двух длинах волн, соответствующих максимумам поглощения пигментов в данном растворителе (в этаноле—665,649).

Содержание суммы каротиноидов определяют в этой же вытяжке, измеряя величину оптической плотности (D) при длине волны 449,5 нм.

Представление результатов:

Концентрация пигментов рассчитывается по формуле

а) для хлорофиллов

$$C_{\text{хл. а}} = 13,70 * D_{665} - 5,76 * D_{649}$$

$$C_{\text{хл.}b} = 25,80 * D_{649} - 7,66 * D_{665}$$

$$C_{\text{хл.}a+\text{хл.}b} = 6,10 * D_{665} + 20,04 * D_{649}$$

б) для каротиноидов

$$C_{\text{кар}} = \frac{1000 * D_{449,5} - 0,52 C_{\text{хл.}a} - 7,25 C_{\text{хл.}b}}{226}$$

Содержание пигментов в растительном материале в мг/г сырого веса рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{C * V}{P * 1000} \text{ (мг/г. с. в.)}, \text{ где}$$

C– концентрация пигмента в мг/л;

V– объем вытяжки пигмента в мл;

P– навеска растительного материала в г;

A– содержание пигмента в растительном материале в мг/л сырого веса.

Количество пигментов выражают в миллиграммах на единицу сырого или сухо веса, в % от сухого (сырого) веса, в миллиграммах на единицу площади листа (например, на дм^2).

Обычно в зеленых листьях концентрация хлорофилла колеблется от 0,5 мг до 3 мг на 1 г свежего веса при отношении $a/b = 2,5-3$. Содержание каротиноидов – 0,1–0,5 мг/г сырого веса.

4. По полученным данным сделать графики и соответствующие Выводы.

Проведение лабораторной работы способствуют активному усвоению знаний по биологии и экологии, формированию практических умений и навыков, а также расширению кругозора учащихся, у школьников собирается объемный материал о методах исследования, большое количество фотографий все это они могут использовать для подготовки сообщений, докладов и рефератов. Полученные материалы исследований школьники могут использовать для начала своей научной деятельности.

ВЫВОДЫ

1. Обработка семян огурца низкими положительными температурами в целом снизило концентрацию фотосинтетических пигментов. А обработка семян томата низкими положительными температурами практически не изменило содержание основных и дополнительных пигментов.
2. Предварительное закаливание семян томата и огурца оказало положительный эффект на устойчивость хлорофилла к действию ультрафиолетового излучения *in vitro*.
3. Действие низкими положительными температурами на семена огурца в течение 24 часов и при температуре $+8^{\circ}\text{C}$ значительно повысило концентрацию фотосинтетических пигментов при воздействии ультрафиолетовым излучением.
4. Действие низкими положительными температурами на семена томата в течение 6 часов и при температуре $+5^{\circ}\text{C}$ и в течение 12 часов и при температуре $+8^{\circ}\text{C}$ вызвало к повышению концентрации фотосинтетических пигментов при действии ультрафиолетового излучения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Акназаров, О.А. / Спектральный состав света как фактор изменения физиологического состояния и продуктивности растений. / О.А. Акназаров, М. Содаткадамов // Отд. биол. и мед.наук. – М.: Изв. АН Таджикистан ССР–1988, № 3 (112) – С. 50–53.
2. Акназаров, О.А. Действие ультрафиолетовой радиации на рост, морфогенез и уровень гормонов высокогорных растений: автореф. дис. докт. / О.А. Акназаров.: – Душамбе. – 1991. – 47 с.
3. Андрианова,Ю.Е. Хлорофилл и продуктивность растений [Текст] / Андрианова,Ю.Е., Тарчевский И.А. – М.: Наука, 2000. 135 с.
4. Биохимические механизмы адаптации растений в условиях радиационного воздействия [Текст] / Е.П. Храмова, Г.И. Высочина, О.В. Тарасов, К.П. Куценогий и др. – 2008. –№16. – С. 1–9.
5. Веселовский, В.А. Стресс растений. Биофизический подход [Текст] / В.Т. Веселова, Д.С. Чернавский. // Физиология растений. – М.: Издательство Московского университета, 1993. – № 4. – С. 260–304
6. Воскресенская, Н.П. Фотосинтез и спектральный состав света [Текст] / Н.П.Воскресенская. – М.: Наука, 1965. – 308 с.
7. Гавриленко, В.Ф. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание. Учебное пособие. [Текст] / В.Ф. Гавриленко, М.Е. Ладыгина, Л.М. Хандобина.–М.: изд-во Высшая школа 1975.–392 с.
8. Генкель, П.А. Физиология растений. Учебник для студентов биол. фак. пед. ин-тов [Текст] / П.А Генкель.– М.: Просвещение, 1975 – 317 с.
9. Годнев, Т.Н. Хлорофилл и его роль в природе (конспект лекций по избранным главам физиологии растений) [Текст] / Т.Н. Годнев.– Минск: Изд-во Белорус. университета им. В.И. Ленина, 1955.–206 с.

10. Горышина, Т. К. Экология растений [Текст] / Т. К. Горышина. – М.: Высш. школа, 1979. – 368 с.
11. Дубров, А.П. Генетические и физиологические эффекты действия ультрафиолетовой радиации на высшие растения [Текст] / А.П. Дубров. – М.: Наука, 1968. – 250 с.
12. Дубров, А.П. Действие ультрафиолетовой радиации на растения [Текст] / А.П. Дубров. – М.: Изд. Академии наук СССР. – 1963. – 115 с.
13. Клейтон, Р. Фотосинтез. Физические механизмы и химические модели [Текст] / Р. Клейтон. – М.: Мир, 1984. – 263 с.
14. Климов, С.В. Адаптация растений к низким температурам [Текст] / С.В. Климов. – *Усп. совр. биол.* – 2001. – С. 3–22
15. Креславский, В. Д. Предоблучение отделенных листьев шпината красным светом повышает устойчивость фотосинтетического аппарата к УФ-радиации [Текст] / В.Д. Креславский // Физиология растений. Журнал Российской академии наук. – 2012 г. – № 6. – С. 723–729.
16. Культнаосв, И.М. Экология растений [Текст] / И.М. Культнаосв. – М.: Изд-во Москв. Ун-та, 1982. – 384 с.
17. Магаши, А.И. Оценка сортообразцов *Brassicachinensis* L. по количественным признакам и наличию ряда антиоксидантов.: дис. ... канд. сельскохозяйственных наук / А.И. Магаши.: – М., 2002. – 134 с.
18. Медведев, С.С. Физиология растений [Текст] / С.С. Медведев. – СПб.: БВХ – Петербург, 2013. – 484 с.
19. Павлова, Е.И. Экология транспорта [Текст] / Е.И. Павлова. – М.: Транспорт, 2000. – 248 с.
20. Сергеева, К.А. Физиологические и биохимические основы зимостойкости древесных растений [Текст] / К.А. Сергеева. – М.: Наука, –1971. – 432 с.
21. Сунцова, Л.Н. Физиология растений [Текст] / Л.Н. Сунцова. – Красноярск: СибГТУ, 2004. – 60 с.

22. Тимирязев, К.А. Жизнь растения. [Текст] / К.А Тимирязев.– Изд. 8-е. – М., 1914. – 360 с
23. Третьяков, Н.Н. Практикум по физиологии растений. [Текст] / Н.Н. Третьяков.– М.: КолосС, 2003.– 288 с.
24. Трунова, Т.И. Физиологические и биохимические основы адаптации растений к морозу [Текст] / Т.И Трунова // *Сельскохозяйственная биология*, – 1984.– №6. С. 3–10
25. Трунова, Т.И. Сахара как один из факторов, повышающих морозостойкость растений [Текст] / Т.И. Трунова. – *Известия АН СССР, Сер.биол.*, 1972. – С.185–189
26. Туманов, И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений [Текст] / И.И. Туманов.–М.: Наука, –1979.–352 с.
27. Хизбуллина, Р. З. Формирование экологической культуры школьников при изучении проблем взаимоотношений человека и природы : автореферат дис. ... канд. пед. наук : 13.00.01 / Башкир.гос. пед. ун-т. – Уфа, 2002. – 19 с.
28. Чепалов, В.А. Эколого-физиологические особенности пигментного аппарата у растений криолитозоны Якутии.: дис. ... канд. биол. наук / Чепалов Валентин Азотович.– Иркутск, 2010.– 135 с.
29. Чернова, Н.М. Общая экология [Текст] / Н.М. Чернова, А.М. Былова. –М.: Дрофа, 2004.– 324 с.
30. www.biologylib.ru. Фотосинтетические пигменты [Электронный ресурс].–2015.–Режим доступа: <http://biologylib.ru/books/item/f00/s00/z0000009/st190.shtml>, свободный
31. www.studbooks.net. Действие ультрафиолетового излучения на клетку [Электронный ресурс].–2015.–Режим доступа: http://studbooks.net/899326/estestvoznanie/deystvie_ultrafioletovogo_izluche_niya_kletku, свободный.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Однофакторный дисперсионный анализ

«Влияние низких положительных температуры на устойчивость фотосинтетических пигментов на растение огурец»

<i>Группы</i>	<i>Счет</i>	<i>Сумма</i>	<i>Среднее</i>	<i>Дисперсия</i>
Столбец 1	7	55,844	7977.714286	870839.9048
Столбец 2	7	47,935	6847.857143	811637.1429
Столбец 3	7	103,807	14829.57143	1857177.952
Столбец 4	7	33,174	4739.142857	948407.4762

Дисперсионный анализ

<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	4E+08	3	1.33E+08	118.8923	1.54E-14	3.008787
Внутри групп	269,28375	24	112,2016			
Итого	4.27E+08	27				

ИТОГИ

<i>Группы</i>	<i>Счет</i>	<i>Сумма</i>	<i>Среднее</i>	<i>Дисперсия</i>
Столбец 1	7	55.844	7977.714	870839.9
Столбец 2	7	47,935	6847.857	811637.1
Столбец 3	7	103,807	14829.57	1857178
Столбец 4	7	33,174	4739.143	948407.5

Дисперсионный анализ

<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	4E+08	3	1.33E+08	118.8923	1.54E-14	3.008787
Внутри групп	269,28375	24	1122016			
Итого	4.27E+08	27				

ИТОГИ

<i>Группы</i>	<i>Счет</i>	<i>Сумма</i>	<i>Среднее</i>	<i>Дисперсия</i>
Столбец 1	7	31561	4508.714	875479.6
Столбец 2	7	13416	1916.571	228441.6
Столбец 3	7	45126	6446.571	2009675
Столбец 4	7	27812	3973.143	289337.8

Дисперсионный анализ

<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	728,51742	3	242839.14	28.54468	4.36E-08	3.008787
Внутри групп	204,17606	24	850733.6			
Итого	932.6934	27				

$F > F_{\text{критическая}}$ – означает, что фактор статистически значим.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Однофакторный дисперсионный анализ

«Влияние низких положительных температуры на устойчивость фотосинтетических пигментов на растение томат»

ИТОГИ

<i>Группы</i>	<i>Счет</i>	<i>Сумма</i>	<i>Среднее</i>	<i>Дисперсия</i>
Столбец 1	7	48.206	6886.571	292697.3
Столбец 2	7	22.784	3254.857	129702.8
Столбец 3	7	70.779	10111.29	793423.9
Столбец 4	7	36.561	5223	96280.67

Дисперсионный анализ

<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	1.77E+08	3	58995497	179.85	1.41E-16	3.008787
Внутри групп	7872628	24	328026.2			
Итого	1.85E+08	27				

ИТОГИ

<i>Группы</i>	<i>Счет</i>	<i>Сумма</i>	<i>Среднее</i>	<i>Дисперсия</i>
Столбец 1	7	37209	5315.571	1588246
Столбец 2	7	19612	2801.714	532412.6
Столбец 3	7	56826	8118	3181179
Столбец 4	7	33930	4847.143	82424.81

Дисперсионный анализ

<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	1.01E+08	3	33563651	24.93463	1.5E-07	3.008787
Внутри групп	32305574	24	1346066			
Итого	1.33E+08	27				

ИТОГИ

<i>Группы</i>	<i>Счет</i>	<i>Сумма</i>	<i>Среднее</i>	<i>Дисперсия</i>
Столбец 1	7	30,138	4305.429	1907534
Столбец 2	7	13,333	1904.714	558297.6
Столбец 3	7	50,027	7146.714	2791252
Столбец 4	7	27,445	3920.714	230612.6

Дисперсионный анализ

<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	978,84911	3	32628304	23.78288	2.28E-07	3.008787
Внутри групп	329,26174	24	1371924			
Итого	1.31E+08	27				

$F > F$ критическая – означает, что фактор статистически значим.