

Лабораторная р а б о т а 1. ПРОНИЦАЕМОСТЬ ПРОТОПЛАСТА РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ОСТРОМ ГАММА - ОБЛУЧЕНИИ

Протопласт растительной клетки обладает избирательной проницаемостью. Он способен пропускать воду, но ограничивает передвижение растворенных в ней осмотически активных веществ. Избирательная проницаемость обеспечивает сохранение относительного постоянства внутриклеточной среды. Она обусловлена наличием в протопласте двух ограничивающих мембран: плазмалеммы, расположенной на поверхности протопласта, и тонопласта, отделяющего цитоплазму от клеточного сока вакуоли. В меньшей мере избирательность обеспечивается мезоплазмой – слоем цитоплазмы, расположенным между плазмалеммой и тонопластом.

Согласно жидкостно-мозаичной гипотезе основу мембран составляет двойной слой липидов: фосфолипидов, галактолипидов, стероидов и жирных кислот. В состав биологических мембран входят также структурные и регуляторные белки, а также белки, выполняющие функции ферментов, переносчиков, ионных каналов. Основную роль в формировании мембран играют гидрофобные связи: липид-липид, липид-белок, белок-белок. В целом лабильная структура мембран позволяет выполнять им различные функции: барьерную, транспортную, осмотическую, электрическую, структурную, энергетическую и некоторые другие.

Проницаемость протопласта зависит от многих факторов и свойственна только живой клетке, находящейся в нормальном физиологическом состоянии. При повреждении отдельных участков протопласта под действием высокой и низкой температуры, ионизирующих излучений, кислот, спиртов и других веществ свойство полупроницаемости теряется и мембрана становится проницаемой. При этом соли, сахара, пигменты клеточного сока и другие вещества покидают клетку и выходят в окружающий раствор. По изменению концентрации этих растворов определяют степень повреждения мембран. Она, как правило, пропорциональна концентрации выделенных веществ.

Действие радиации приводит к повышению проницаемости протопласта. В исследованиях установлено, что при облучении дозой 10 Гр в эпидермальных клетках лука, в клетках зародышевых корешков и проростков бобов наблюдается потеря тургора. Дозы 750–14500 Гр приводят у корнеплодов свеклы и моркови к истеканию некоторых веществ клеточного сока за пределы клетки. Таким образом, проницаемость протопласта относится к радиочувствительным свойствам клетки.

Цель работы: изучить влияние острого гамма-облучения на проницаемость протопласта растительной клетки.

Материалы и оборудование: необлученные (контроль) и облученные гамма-излучением в дозах 1000, 3000, 6000, 9000, 12000, 15000, 18000, 21000 Гр корнеплоды столовой свеклы; стеклянные чашки и пробирки; фотоэлектрокалориметр (ФЭК - М); дистиллированная вода.

Выполнение работы. 1. Из корнеплодов свеклы вырезать пробочным сверлом кусочки длиной 2 см.

2. Тщательно промыть вырезанные кусочки в проточной воде для полного удаления клеточного сока из поврежденных клеток. Промытые кусочки поместить на 10 мин. в стеклянные чашки с водой.

3. Разложить кусочки в пробирки, залить 5 мл дистиллированной воды, подписать номер варианта опыта.

4. Через 1 час пробирки с кусочками свеклы встряхивают. При этом вода в случае повреждения протопласта окрашивается антоцианом клеточного сока в красно - бордовый цвет. Интенсивность окраски будет зависеть от степени повреждения протопласта под влиянием облучения.

5. Определить на фотоэлектрокалориметре оптическую плотность раствора в контрольной и опытных пробирках. В качестве контроля используют раствор, в котором

находился кусочек необлучённой свеклы. Работа выполняется в приведенной ниже последовательности.

5.1. За 30 мин. до измерения включить лампы ФЭК-М и блок питания. В ходе лучей прибора установить зелёный светофильтр.

5.2. При закрытой крышке и шторке прибора вращением правого и левого барабанов установить их шкалы на нулевой отсчёт. Регуляторами грубой и точной настройки установить стрелку миллиамперметра на отсчёте «0».

5.3. Налить в одну из кювет воду до метки на боковой стенке и установить её в левый кюветодержатель. Наливая растворы в кюветы, необходимо следить за тем, чтобы их наружные стенки оставались сухими. Перед установкой кювет их широкие стенки тщательно вытирают фильтровальной бумагой.

5.4. В правый кюветодержатель устанавливают две кюветы – одну с водой, другую – с исследуемым раствором. Все кюветы в обоих кюветодержателях должны находиться в одной плоскости на одинаковом расстоянии от ламп прибора.

5.5. Поворотом рукоятки в правый ход лучей ФЭК-М помещают кювету с исследуемым раствором. Открывают шторку. При этом стрелка миллиамперметра отклоняется влево. Поворотом левого барабана стрелку возвращают в исходное (нулевое) положение. Шторку закрывают.

5.6. Поворотом рукоятки в правый ход лучей ФЭК-М помещают кювету с водой и открывают шторку. Стрелка миллиамперметра отклоняется вправо. Поворотом правого барабана стрелку возвращают в исходное (нулевое) положение. На левой шкале правого барабана берут отсчёт оптической плотности. Измерение проводят в трёхкратной повторности, результаты записывают в таблицу 1.

Т а б л и ц а 1. Результаты измерения оптической плотности растворов

№ п.п.	Доза, Гр	Показания ФЭК - М			
		1	2	3	Среднее
1	Контроль				
2	1000				
3	3000				
4	6000				
5	9000				
6	12000				
7	15000				
8	18000				
9	21000				

6. Построить график зависимости оптической плотности раствора от дозы. На оси абсцисс откладывают дозу, на оси ординат – оптическую плотность раствора. Следует помнить, что чем выше оптическая плотность раствора, тем сильнее повреждён протопласт и выше его проницаемость.

7. Проанализировать результаты исследований и сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Что такое проницаемость протопласта?
2. Как устроена клеточная мембрана?
3. Назовите функции клеточной мембраны.
4. Что влияет на проницаемость протопласта?

5. По каким косвенным показателям можно судить о нарушении проницаемости протопласта?

6. Как облучение высокими дозами влияет на проницаемость протопласта?

7. В каких пределах находятся дозы, вызывающие повреждение протопласта в клетках корнеплодов свеклы?

8. Почему с увеличением дозы изменяется интенсивность окраски и оптическая плотность раствора?

9. Какой вид имеет график зависимости проницаемости протопласта от дозы облучения?