Введение

Растение, как и всякий живой организм, состоит из клеток, причем каждая клетка порождается тоже клеткой. Клетка — это простейшая и обязательная единица живого, это его элемент, основа строения, развития и всей жизнедеятельности организма.

Существуют растения, построенные из одной-единственной клетки. К ним относятся одноклеточные водоросли и одноклеточные грибы. Обычно это микроскопические организмы, но есть и довольно крупные одноклеточные (длина одноклеточной морской водоросли ацетабулярии достигает 7 см). Большинство растений, с которыми мы сталкиваемся в повседневной жизни, — это многоклеточные организмы, построенные из большого числа клеток. Например, в одном листе древесного растения их около 20 000 000. Если дерево имеет 200 000 листьев (а это вполне реальная цифра), то число клеток во всех них составляет 4000 000 000 000. Дерево в целом содержит еще раз в 15 больше клеток.

Растения, за исключением некоторых низших, состоят из органов, каждый из которых выполняет свою функцию в организме. Например, у цветковых растений органами являются корень, стебель, лист, цветок. Каждый орган обычно построен из нескольких тканей. Ткань — это собрание клеток, сходных по строению и функциям. Клетки каждой ткани имеют свою специальность. Выполняя работу по своей специальности, они вносят вклад в жизнь целого растения, которая состоит в сочетании и взаимодействии разных видов работы различных клеток, органов, тканей.

Основными, самыми общими компонентами, из которых построены клетки, являются ядро, цитоплазма с многочисленными органоидами различного строения и функций, оболочка, вакуоль. Оболочка покрывает клетку снаружи, под ней находится цитоплазма, в ней — ядро и одна или несколько вакуолей. Как строение, так и свойства клеток разных тканей в связи с их разной специализацией резко различаются. Перечисленные основные компоненты и органоиды, о которых речь пойдет дальше, развиты в них в различной степени, имеют неодинаковое строение, а иногда тот или иной компонент может вовсе отсутствовать.

Главнейшими группами тканей, из которых построены вегетативные (непосредственно не связанные с размножением) органы высшего растения, являются следующие: покровные, основные, механические, проводящие, выделительные, меристематические. В каждую группу обычно входит несколько тканей, имеющих сходную специализацию, но построенных каждая по-своему из определенного вида клеток. Ткани в органах не изолированы друг от друга, а составляют системы тканей, в которых элементы отдельных тканей чередуются. Так, древесина — это система из механической и проводящей, а иногда и основной ткани.

# Структура растительной клетки

**Клетка является основной структурной и функциональной единицей живых организмов.**

Клетки эмбриональных (неспециализированных) тканей животных и растений в общем плане строения очень сходны. Именно это обстоятельство в свое время явилось причиной для появления и развития клеточной теории. Морфологические различия проявляются уже в дифференцированных клетках специализированных тканей растений и животных. Особенности строения растительной клетки, как и растения в целом, связаны с образом жизни и способом питания. Большинство растений ведет относительно неподвижный (прикрепленный) образ жизни. Специфика питания растений состоит в том, что вода и питательные вещества: органические и неорганические, находятся вокруг в рассеянном виде и растению приходится их поглощать путем диффузии. Кроме того, зеленые растения на свету осуществляют автотрофный способ питания. Благодаря этому, эволюционно сложились некоторые специфические особенности строения и роста растительных клеток. К ним относятся:

* прочная полисахаридная клеточная стенка, окружающая клетку и составляющая жесткий каркас;
* пластидная система, возникшая в связи с автотрофным типом питания;
* вакуолярная система, которая в зрелых клетках обычно представлена крупной центральной вакуолью, занимающей до 95% объема клетки и играющей важную роль в поддержании тургорного давления;
* особый тип роста клеток путем растяжения (за счет увеличения объема вакуоли);
* тотипотентность, то есть возможность регенерации полного растения из дифференцированной растительной клетки;
* есть еще одна деталь, отличающая растительные клетки от клеток животных: у растений при делении клеток не выражены центриоли.

Строение клетки в самом общем виде известно вам еще из курса общей биологии и при подготовке к вступительным экзаменам вы достаточно хорошо штудировали эту тему. Эта тема в разных аспектах рассматривается и в соответствующих университетских курсах (например, зоология беспозвоночных, низшие растения). Кроме того, более детальное знакомство с клеткой на высоком уровне предстоит в курсе «цитология». Нам же важно акцентировать внимание на специфических особенностях строения растительной клетки, причем преимущественно клетки высшего растения.

При самом поверхностном рассмотрении структуры типичной растительной клетки в ее составе обнаруживаются три основных компонента:

1. клеточная стенка,
2. вакуоль, занимающая в зрелых клетках центральное положение и заполняющая практически весь их объем и
3. протопласт, оттесняемый вакуолью к периферии в виде постенного слоя.
4. Именно эти компоненты обнаруживаются на малом увеличении светового микроскопа. Причем клеточная оболочка и вакуоль являются продуктами жизнедеятельности протопласта.

Живое тело клетки ? протопласт состоит из органоидов, погруженных в гиалоплазму. К организмам клетки относятся: ядро, пластиды, митохондрии, диктиосомы, эндоплазматический ретикулум, микротельца и др. Гиалоплазма с органеллами за вычетом ядра составляет цитоплазму клетки.

Для выражения размеров субклеточных структур используются определенные меры длины: микрометр и нанометр.

Микрометр в системе единиц измерения СИ величина, равная 10-6 м. Говоря другими словами, микрометр (аббревиатура мкм) составляет 1/1000000 долю метра и 1/1000 долю миллиметра. 1 мкм = 10-6 м. Старое название этой меры микрон.

Нанометр в той же системе представляет миллионную долю миллиметра 1 нм = 10-9 м и тысячную долю микрометра.

Размеры и форма растительных клеток варьируются в широком диапазоне. В типичном случае размеры клеток высшего растения колеблются в пределах 10 – 300 мкм. Правда, встречаются клетки – гиганты, например, клетки сочной мякоти плодов цитрусовых составляют в поперечнике несколько миллиметров или чрезвычайно длинные лубяные волокна у крапивы достигают 80 мм длины при микроскопической толщине.

По форме различают изодиаметрические клетки, у которых линейные размеры во всех направлениях равны или отличаются незначительно (то есть длина, ширина и высота этих клеток сопоставимы). Такие клетки называют паренхимными (паренхима).

Сильно вытянутые клетки, у которых длина во много раз (иногда в сотни и тысячи) превышает высоту и ширину, называют прозенхимными (прозенхима).

**Методы изучения растительной клетки**

Для изучения клеток разработано и применяется множество методов, возможности которых определяют уровень наших знаний в этой области. Успехи в изучении биологии клетки, включая наиболее выдающиеся достижения последних лет, как правило, связаны с применением новых методов. Поэтому для более полного понимания клеточной биологии необходимо иметь хотя бы некоторое представление о соответствующих методах исследования клетки.

**Световая микроскопия**

Самым древним и, вместе с тем, наиболее распространенным методом изучения клетки является микроскопия. Можно сказать, что и начало изучения клетки было положено изобретением светового оптического микроскопа.

Невооруженный человеческий глаз имеет разрешающую способность около 1/10 мм. Это означает, что если вы смотрите на две линии, которые находятся друг от друга на расстоянии меньше 0,1 мм, они сливаются в одну. Чтобы различить структуры, расположенные более тесно, применяют оптические приборы, например, микроскоп.

Но возможности светового микроскопа не безграничны. Предел разрешения светового микроскопа задается длиной световой волны, то есть оптический микроскоп может быть использован только для изучения таких структур, минимальные размеры которых сопоставимы с длиной волны светового излучения. Лучший световой микроскоп имеет разрешающую способность около 0.2 мкм (или 200 нм), то есть примерно в 500 раз улучшает человеческий глаз. Теоретически построить световой микроскоп с большим разрешением невозможно.

Многие компоненты клетки близки по своей оптической плотности и без специальной обработки практически не видны в обычный световой микроскоп. Для того, чтобы сделать их видимыми, используют различные красители, обладающие определенной избирательностью.

В начале XIX в. Возникла потребность в красителях для окрашивания текстильных тканей, что в свою очередь вызвало ускоренное развитие органической химии. Оказалось, что некоторые из этих красителей окрашивают и биологические ткани и, что было уж совсем неожиданно, часто предпочтительно связываются с определенными компонентами клетки. Использование таких избирательных красителей дает возможность более тонко исследовать внутреннее строение клетки. Приведем лишь несколько примеров:

* краситель гематоксилин окрашивает некоторые компоненты ядра в синий или фиолетовый цвет;
* после обработки последовательно флороглюцином и затем соляной кислотой одревесневшие оболочки клеток становятся вишнево – красными;
* краситель судан III окращивает опробковевшие клеточные оболочки в розовый цвет;
* слабый раствор йода в йодистом калии окрашивает крахмальные зерна в синий цвет.

Для проведения микроскопических исследований большую часть тканей перед окраской фиксируют. После фиксации клетки становятся проницаемыми для красителей, а структура клетки стабилизируется. Одним из наиболее распространенных фиксаторов в ботанике является этиловый спирт.

Фиксация и окрашивание не единственные процедуры, используемые для приготовления препаратов. Толщина большинства тканей слишком велика, чтобы их сразу можно было наблюдать при высоком разрешении. Поэтому выполняют тонкие срезы на микротоме. В этом приборе использован принцип хлеборезки. Для растительных тканей изготавливают чуть более толстые срезы, чем для животных, поскольку клетки растений обычно крупнее. Толщина срезов растительных тканей для световой микроскопии около 10 мкм – 20 мкм. Некоторые ткани слишком мягкие, чтобы из них сразу же можно было получить срезы. Поэтому после фиксации их заливают в расплавленный парафин или специальную смолу, которые пропитывают всю ткань. После охлаждения образуется твердый блок, который затем режется на микротоме. Правда, для растительных тканей заливка применяется значительно реже, чем для животных. Это объясняется тем, что растительные клетки имеют прочные клеточные стенки, составляющие каркас ткани. Особенно прочны одревесневшие оболочки.

Однако заливка может нарушить структуру клетки, поэтому применяют еще и другой метод, где эта опасность уменьшена ? быстрое замораживание. Здесь можно обойтись без фиксации и заливки. Замороженную ткань режут на специальном микротоме (криотоме).

Замороженные срезы, приготовленные таким способом, имеют явное преимущество, поскольку в них лучше сохраняются особенности естественной структуры. Однако их труднее готовить, а присутствие кристаллов льда все же нарушает некоторые детали.

Микроскопистов всегда беспокоила возможность потери и искажения некоторых компонентов клетки в процессе фиксации и окраски. Поэтому полученные результаты проверяют другими методами.

Весьма заманчивой представлялась возможность исследовать под микроскопом живые клетки, но так, чтобы более отчетливо проявились детали их строения. Такую возможность дают особые оптические системы: фазово-контрастный и интерференционный микроскопы. Хорошо известно, что световые волны, подобно волнам воды, могут интерферировать друг с другом, увеличивая или уменьшая амплитуду результирующих волн. В обычном микроскопе, проходя через отдельные компоненты клетки, световые волны меняют свою фазу, хотя человеческий глаз этих различий не улавливает. Но за счет интерференции можно преобразовать волны, и тогда разные компоненты клетки можно отличить друг от друга под микроскопом, не прибегая к окрашиванию. В этих микроскопах используют 2 пучка световых волн, которые взаимодействуют (налагаются) друг на друга, усиливая или уменьшая амплитуду волн, поступающих в глаз от разных компонентов клетки.

**Электронная микроскопия**

Возможности светового микроскопа, как уже было сказано, ограничиваются длиной волны видимого света. Его максимальная разрешающая способность составляет примерно 0.2 мкм.

Большой шаг вперед был сделан в микроскопии в 20-х годах нашего века, когда было обнаружено, что соответствующим образом подобранные электромагнитные поля можно использовать подобно линзам для фокусирования пучков электронов.

Длина волны электрона значительно меньше, чет длина волны видимого света, и если вместо света использовать электроны, то предел разрешения микроскопа может быть заметно снижен.

На основе всего этого был создан микроскоп, в котором вместо света используется пучок электронов. Первый электронный микроскоп сконструировали в 1931 г. Кнолл и Руска в Германии. Прошло, однако, много лет, прежде чем появилась возможность изучать при помощи этого микроскопа срезы тканей. Лишь в 50-е годы были разработаны методы изготовления срезов, обладающих необходимыми качествами. С этого времени началась новая эра микроскопии, и в науку буквально хлынул поток информации о тонком строении клеток (ультраструктуре клеток).

Сложности электронной микроскопии состоят в том, что для исследования биологических образцов необходима специальная обработка препаратов.

Первая трудность заключается в том, что электроны обладают очень ограниченной проникающей способностью, поэтому следует изготавливать ультратонкие срезы, толщиной 50 – 100 нм. Для того, чтобы получить столь тонкие срезы, ткани сперва пропитывают смолой: смола полимеризуется и формирует твердый пластмассовый блок. Затем с помощью острого стеклянного или алмазного ножа срезы нарезают на специальном микротоме.

Есть еще одна трудность: при прохождении через биологическую ткань электронов не получается контрастного изображения. Для того, чтобы получить контраст, тонкие срезы биологических образцов пропитывают солями тяжелых металлов.

Существует два основных типа электронных микроскопов. В трансмиссионном (просвечивающем) микроскопе пучок электронов, проходя сквозь специально подготовленный образец, оставляет его изображение на экране. Разрешающая способность современного трансмиссионного электронного микроскопа почти в 400 раз больше светового. Эти микроскопы имеют разрешающую способность около 0,5 нм (для сравнения: диаметр атома водорода около 0,1 нм).

Несмотря на столь высокое разрешение, просвечивающие электронные микроскопы имеют крупные недостатки:

* приходится работать с фиксированными материалами;
* изображение на экране получается двумерным (плоским);
* при обработке тяжелыми металлами разрушаются и видоизменяются некоторые клеточные структуры.

Трехмерное (объемное) изображение получают с помощью сканирующего электронного микроскопа (ЭМ). Здесь луч не проходит через образец, а отражается от его поверхности.

Исследуемый образец фиксируют и высушивают, после чего покрывают тонким слоем металла ? операция называется оттенением (образец оттеняют).

В сканирующем ЭМ сфокусированный электронный пучок направляется на образец (образец сканируют). В результате металлическая поверхность образца испускает вторичные электроны слабой энергии. Они регистрируются и преобразуются в изображение на телевизионном экране. Максимальное разрешение сканирующего микроскопа невелико, около 10 нм, но зато изображение получается объемным.

**Метод замораживания-скалывания**

Принципиально новые возможности электронной микроскопии открылись сравнительно недавно, после разработки метода «замораживания – скалывания». С помощью этого метода исследуются тончайшие детали строения клетки, при этом получается объемное изображение в трансмиссионном электронном микроскопе.

При обычном замораживании в клетках образуются кристаллики льда, которые заметно искажают их структуру. Во избежание этого клетки замораживают очень быстро при температуре жидкого азота (- 196¦ С). При таком мгновенном замораживании кристаллы льда не успевают образоваться, и клетка не испытывает деформаций.

Замороженный блок раскалывают лезвием ножа (отсюда и название метода). Затем, обычно в вакуумной камере, избыток льда удаляют возгонкой. Эта операция называется травлением. После травления более резко обозначается рельеф в плоскости скола. Полученный образец оттеняется, то есть на поверхность образца напыляется тонкий слой тяжелых металлов. Однако весь фокус состоит в том, что напыление производится под углом к поверхности образца. Это очень важный момент. Появляется эффект тени, изображение выглядит объемным.

В трансмиссионном микроскопе электронный луч способен проникнуть только через очень тонкие срезы. Обычная толщина оттененных образцов чрезмерно велика, поэтому органическую материю, подстилающую слой металла, необходимо растворить. В результате остается тонкая металлическая реплика (или отпечаток) с поверхности образца. Реплику и используют в трансмиссионном микроскопе.

Этот метод предоставил, например, уникальную возможность наблюдать внутреннее строение мембран клетки.

**Дифференциальное центрифугирование**

Помимо микроскопии, другим основным и широко распространенным методом изучения клеток является дифференциальное центрифугирование или фракционирование.

Принцип метода состоит в том, что при центрифугировании развивается центробежная сила, под воздействием которой взвешенные частицы оседают на дно центрифужной пробирки.

После того, как в начале 40-х годов начали использовать ультрацентрифугу, разделение клеточных компонентов стало вполне реальным.

Прежде, чем подвергнуть клетки центрифугированию, их необходимо разрушить – разрушить жесткий каркас клеточных оболочек. Для этого используют различные методы: ультразвуковую вибрацию, продавливание через маленькие отверстия или самое обычное измельчение растительных тканей пестиком в фарфоровой ступе. При осторожном применении методов разрушения можно сохранить некоторые органеллы целыми.

При высокоскоростном центрифугировании крупные компоненты клетки (например, ядра) быстро оседают (седиментируют), при относительно низких скоростях и образуют осадок на дне центрифужной пробирки. При более высоких скоростях в осадок выпадают более мелкие компоненты, такие как хлоропласты и митохондрии.

То есть при центрифугировании компоненты клетки распадаются на фракции: крупные и мелкие, поэтому второе название метода ? фракционирование. При этом, чем выше скорость и длительность цетрифугирования, тем мельче полученная фракция.

Скорость седиментации (осаждения) компонентов выражается с помощью коэффициента седиментации, обозначаемого S.

Этапы дифференциального центрифугирования: низкая скорость (ядра, цитоскелет), средняя скорость (хлоропласты), высокая скорость (митохондрии, ризосомы, микротельца), очень высокая скорость (рибосомы).

Фракционированные клеточные экстракты, называемые также бесклеточными системами, широко используются для изучения внутриклеточных процессов. Только работая с бесклеточными экстрактами, можно установить детальный молекулярный механизм биологических процессов. Так, использование именно этого метода принесло триумфальный успех в изучении биосинтеза белка.

Ну и вообще, чистые фракции внутриклеточных структур можно подвергать любым видам анализа.

**Метод культуры клеток**

Клетки животных, выделенные в культуру (то есть помещенные на питательную среду), погибают после определенного числа делений, поэтому считаются трудным и неудобным объектом для культивирования. Другое дело клетки растений, способные делиться неограниченное число раз.

Метод культуры клеток облегчает изучение механизмов клеточной дифференциации у растений.

На питательной среде клетки растений образуют однородную недифференцированную клеточную массу- каллус. Каллус обрабатывают гормонами. Под влиянием гормонов клетки каллуса могут давать начало разным органам.