

УДК 536.621/. 627: 577.121

© Б. Н. Бойко, Р. В. Малышев, С. Ю. Огородникова, З. Ф. Соломина

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ МИКРОКАЛОРИМЕТР ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ МЕТАБОЛИЗМА В ЖИВЫХ СТРУКТУРАХ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

Описан дифференциальный микрокалориметр, предназначенный для исследования влияния внешних условий на интенсивность процессов метаболизма в биологических структурах и тканях. Прибор позволяет получать зависимости интенсивности процессов от температуры и воздействия химических препаратов. Приведены методы и результаты исследований температурных зависимостей дыхания и скорости роста для двух сортов ячменя (*Hordeum distichum* L.) и двух сортов сирени. На проростках ячменя *Hordeum distichum* L. проведены исследования влияния на интенсивность дыхания и скорость роста различных концентраций метилфосфорной кислоты. Результаты позволяют дать сравнительную оценку скороспелости сортов, их устойчивости к воздействию климатических и поражающих факторов.

Кл. сл.: калориметр, скорость роста, тепловыделение *Hordeum distichum* L., *Syringa josikaea* Jacq., *Syringa vulgaris* L.

### ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЙ

Калориметрия как метод измерения тепловой энергии, связанной с протеканием различных процессов в окружающем нас мире становится в настоящее время мощным экспериментальным средством исследования этих процессов. Этот метод широко используют для исследования химических реакций и фазовых превращений в веществах и начинают применять для изучения процессов в живых системах. Одним из перспективных направлений применения калориметрии в биологии являются исследования в области физиологии растений.

Для оценки влияния среды на организм в физиологии растений традиционно применяют различные физические методы: спектроскопию, спирометрию, фотометрию. Однако измеряемые при этом физические величины, как правило, косвенно связаны с исследуемыми процессами. Значительно большей познавательной ценностью обладают методы термодинамики, основанные на результатах прямого измерения преобразования энергии в процессах метаболизма и на измерении воздействия внешних факторов на энергетику этих процессов. При этом возможности современной техники позволяют решать обратную задачу термодинамики: по результатам измерения энергии получать информацию о процессах в исследуемом организме. В живых системах тепловыделение является суммарным эффектом протекания множества различных взаимосвязанных процессов. Именно это обстоятельство является главным препятствием в интерпретации результатов измерения теплопродукции биологических объектов. Однако при-

сущие калориметрии качества — объективность и оперативность — обеспечивают реальную возможность экспериментальной проверки различных количественных моделей изучаемых процессов. В этом состоит большая познавательная ценность применения термодинамических методов исследований. Для практической реализации такой методологии исследований необходимо наличие соответствующих средств измерений и адекватной методики применения этих средств.

В предлагаемой статье приведены результаты совместных работ, проведенных в Лаборатории экологической физиологии растений Института биологии Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар) и в Лаборатории теплофизических приборов и методов исследований Института биологического приборостроения РАН (г. Пушкино).

Целью работ была разработка и изготовление многоканального изотермического микрокалориметра и отработка методов его использования в биологических исследованиях.

Изучение дыхания растений является одним из важных направлений в исследованиях Лаборатории экологической физиологии растений Института биологии (Головкин, 1999). Лаборатория теплофизических приборов и методов исследований Института биологического приборостроения специализируется на применении методов термодинамики в научных исследованиях.

### МИКРОКАЛОРИМЕТР БИОТЕСТ-2

Микрокалориметр Биотест-2 представляет со-

бой специализированный прибор, предназначенный для исследования температурных зависимостей уровня метаболизма в растительных тканях. Принцип действия прибора поясняет структурная схема, приведенная на рис. 1.

Микрокалориметр имеет восемь калориметрических ячеек, семь из которых измерительные и одна ячейка сравнения. Все ячейки окружены тепловым экраном и имеют тепловой контакт через полупроводниковые измерительные термобатареи с массивным теплопроводным телом, которое будем называть опорой. Напряжение, генерируемое термобатареями, в такой конструкции пропорционально потоку теплообмена, протекающему через термобатарею между калориметрической ячейкой и опорой. Конструкция обеспечивает минимальный конвективный теплообмен ячеек, а благодаря высокой теплопроводности термобатарей температура ячеек равна температуре опоры.

Погрешность измерения температуры образца в эксперименте, достигаемая обычными средствами, применяемыми в калориметрии, составляет величину порядка  $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . На порядок ниже величина колебания температуры опоры. Но при тепловом

сопротивлении измерительной термобатареи  $20\text{ K/Wt}$  разница температур между калориметрической ячейкой и опорой, соответствующая тепловому эффекту в  $2\text{ мкВт}$ , равна  $0.00004\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Без специальных средств, исключающих влияние колебаний температуры опоры на результат измерений, получить такое значение пороговой чувствительности невозможно. Для решения этой проблемы и применена ячейка сравнения.

В ячейку сравнения при измерениях помещают контейнер с балластом. Термобатарея этой ячейки включена последовательно и встречно относительно термобатарей измерительных ячеек. Если теплоемкость ячейки сравнения с балластом равна теплоемкости измерительной ячейки с образцом, то будет происходить динамическая компенсация влияния колебаний температуры опоры на результат измерения теплового потока измерительной ячейки. В результате на выходном контакте термобатареи каждой измерительной ячейки будет действовать только напряжение, пропорциональное тепловому потоку от помещенного в ней образца, т.е. пропорциональное выделяющейся в этой ячейке тепловой мощности.

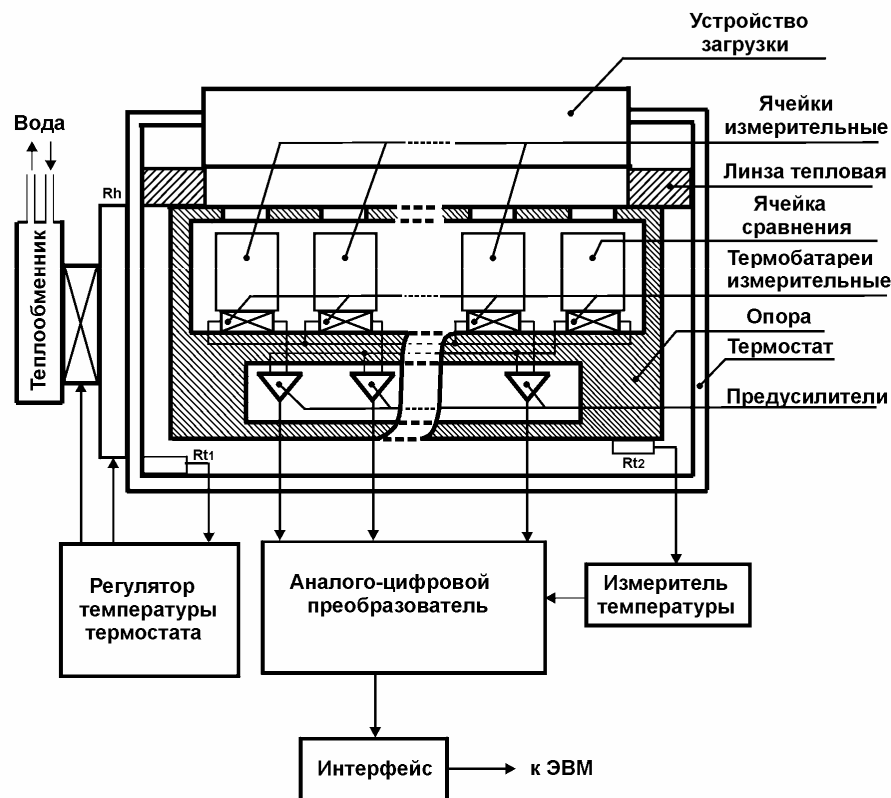


Рис. 1. Структурная схема микрокалориметра Биотест-2

Еще одной причиной, препятствующей достижению высокой пороговой чувствительности прибора, является термо-ЭДС, возникающая в цепях прохождения малых сигналов в местах контакта разнородных металлов, если они находятся при разных температурах. Для исключения этого эффекта в приборе применено конструкторское решение, существенно снижающее разность температур между электрическими контактами, которая является причиной появления указанной термо-ЭДС. С этой целью усилители сигналов от термо-батарей (на рис. 1 — предусилители) размещены внутри опоры, температура которой отличается от температуры измерительных ячеек на величину пренебрежимо малую для обсуждаемого эффекта. Это практически исключает возможность возникновения термо-ЭДС в точках соединения проводников.

Опора снабжена термометром сопротивления  $Rt_2$ , соединенным с измерителем температуры. Сигналы с выходов предусилителей и от измерителя температуры опоры поступают на многоканальный аналого-цифровой преобразователь, после которого уже в цифровой форме через интерфейс — на ЭВМ. Опора с калориметрическими ячейками и предусилителями помещена внутрь термостата. Она имеет тепловой контакт с поверхностью термостата через промежуточную деталь особой конфигурации, выполняющую функцию "тепловой линзы".

Регулятор температуры термостата поддерживает заданную температуру измерения. Датчиком системы регулирования является расположенный на поверхности термостата термометр сопротивления  $Rt_1$ , а исполнительными устройствами служат расположенный на поверхностях термостата нагреватель  $Rh$  и находящаяся в тепловом контакте с термостатом силовая термобатарея  $Tб$ . Температура спаев батареи  $Tб$ , контактирующих с термостатом, поддерживается на 10 градусов ниже температуры, заданной термостату. Такой режим регулирования обеспечивается настройкой и параметрами каналов регулирования. Сброс тепловой энергии от внешних спаев термобатареи осуществляется через теплообменник, омываемый проточной водой. Описанная двухканальная система позволяет получить необходимое качество регулирования.

Большая теплоемкость термостата обеспечивает высокую стабильность поддержания температуры и малое влияние возмущающих факторов, например вызванных перезагрузкой образцов. Однако при этом существенно увеличивается время выхода на режим термостатирования с заданной температурой. Проблема выхода на заданную температуру для выбранной тепловой схемы еще более усложнена тем, что массивная опора, относительно которой проводятся измерения тепловых

потоков, является пассивной с точки зрения регулирования температуры. Температура опоры устанавливается только за счет тепловой связи с термостатируемыми телами через тепловую линзу. Это существенно снижает "шумы", но создает упомянутую проблему.

В микрокалориметре Биотест-2 реализован метод форсированного вывода системы на режим термостатирования. Для этого выбрано оптимальное распределение теплоемкостей, тепловых сопротивлений и температурных градиентов для звеньев в цепочке передачи тепла от силовой термобатареи к калориметрическим ячейкам. Конструкция тепловой линзы, тепловые связи опоры, сочетание большого значения собственной теплоемкости с малыми градиентами температуры позволили получить эффект "минимальной температурной инерции" опоры. Проявление этого эффекта состоит в том, что выравнивание температур при переходе от нагрева термостата с максимальной скоростью к остановке при фиксированной температуре термостата происходит практически без изменения температуры опоры. Это позволяет контролировать температуру, задаваемую термостату, по температуре опоры. Как было показано выше, температура калориметрических ячеек отличается от температуры опоры на величину, существенно меньшую требуемой погрешности определения температуры в эксперименте.

Исследуемые образцы помещаются в прибор через устройство загрузки, которое обеспечивает необходимую теплоизоляцию и герметизацию внутреннего объема ячеек. Имеется возможность заполнения внутреннего объема нужной газовой средой или отбора проб газа. Система загрузки минимизирует возмущения при перезагрузке ячеек.

Измерительные ячейки снабжены калибровочными нагревателями, которые на схеме не показаны. Калибровочные нагреватели соединены последовательно. С помощью этих нагревателей при измерениях можно вводить в измерительные ячейки одинаковый тепловой поток известной величины. Это позволяет в процессе обработки полученной информации исключить влияние разброса чувствительности ячеек, обеспечить их одинаковую калибровку, а также решать другие задачи. Передаваемая на ЭВМ через стандартный интерфейс RS-232 информация содержит результаты измерения температуры и тепловых потоков, а также данные о режиме работы и включенной в данный момент метке. Поставляемая с прибором программа для компьютера работает в составе операционной системы Windows любой версии, выше Win 95. Программа отображает на экране поступающие данные в виде графика или в виде таблиц, автоматически без потерь регистрирует их в виде текстовых файлов на диске. Предусмотрена возможность снабжения файлов комментариями.

**Прибор имеет следующие технические характеристики:**

*Диапазон рабочих температур*  
от  $-10$  до  $50$  °С

*Время выхода на режим измерения после смены контейнера с образцом*  
не более 15 мин

*Количество калориметрических ячеек, включая опорную*  
8

*Рабочий объем ячейки*  
 $1 \text{ см}^3$

*Материал ячейки и контейнеров*  
нержавеющая сталь, алюминий

*Порог чувствительности по уровню шумов*  
не хуже 2 мкВт

*Мощность калибровочного сигнала (по выбору оператора)*  
10, 50 или 500 мкВт

*Информация от прибора*  
выдается в цифровом виде с разрешением 12 двоичных разрядов через COM-порт в формате RS-232.

Общий вид прибора (с персональным компьютером) показан на рис. 2. Прибор представляет собой настольную конструкцию и состоит из двух блоков. Все органы управления расположены в верхней части калориметрического блока на скошенной передней панели. Ребра на боковых стенках улучшают внешний теплообмен термостата. Они эффективны как для режимов с температурой ячеек выше окружающей, так и для режимов с температурой ячеек ниже окружающей.

Калориметрический блок с открытым узлом загрузки показан на рис. 3. В глубине видны калориметрические ячейки, расположенные за тепловым шлюзом. Две крышки шлюза, внутренняя и

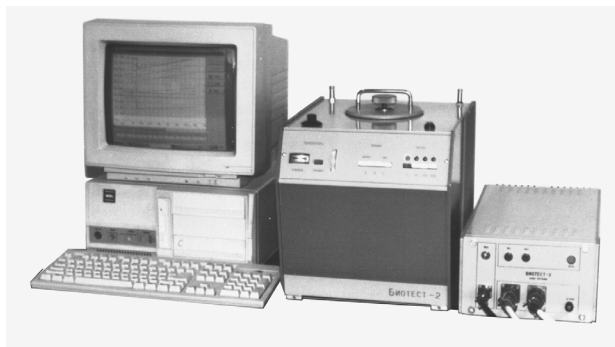


Рис. 2. Микрокалориметр Биотест-2

внешняя, обеспечивают необходимую герметизацию внутреннего объема и теплоизоляцию. Исследуемые образцы помещают в контейнеры, которые могут при необходимости закрываться герметичными крышками. Контейнеры с образцами устанавливаются в калориметрические ячейки. Подробнее устройство и методы работы с прибором приведены в [1].

Программное обеспечение позволяет отображать на экране дисплея результаты в виде графиков в координатах время—тепловой поток или в виде таблиц отсчетов. Все получаемые результаты автоматически регистрируются в виде текстовых файлов данных, пригодных для дальнейшей обработки. Все необходимые опции и коэффициенты сохраняются в конфигурационном файле и автоматически переносятся в регистрируемые файлы данных.

С точки зрения метрологии в приборе измеряются две физические величины: температура калориметрических ячеек и тепловой поток, выделяемый объектом измерения, находящимся в этих ячейках. Метрологическое обеспечение измерений основано на калибровке шкал температуры и теплового потока.

Калибровка температурной шкалы осуществляется по показаниям образцового ртутного термометра, измерительный баллон которого помещается в калориметрическую ячейку. Линейность характеристики встроенного термометра позволяет

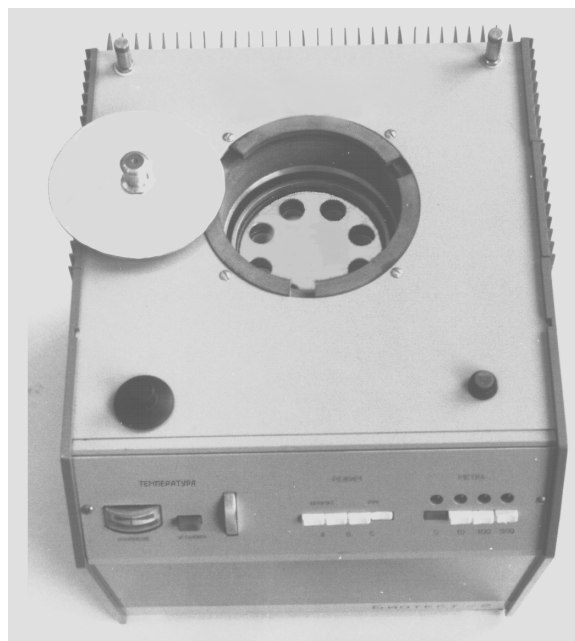


Рис. 3. Калориметрический блок микрокалориметра Биотест-2

проводить калибровку по двум точкам. В процессе калибровки оператор, используя прикладную программу калибровки, вычисляет коэффициенты линейного полинома, преобразующего коды АЦП канала измерения температуры в коды значений температуры в градусах Цельсия. Эти коэффициенты вводятся в конфигурационный файл. По этим коэффициентам программа вычисляет и отображает значения температуры калориметрических ячеек.

Калибровка шкалы теплового потока осуществляется с помощью источника теплового потока, помещаемого внутрь калориметрической ячейки. В качестве источника используется миниатюрная гальваническая батарея, нагруженная на резистор. Выделяемая таким источником тепловая мощность  $P$  точно описывается уравнением

$$P = E^2 / (R + r_0), \quad (1)$$

где  $E$  — ЭДС источника;  $R$  — сопротивление нагрузочного резистора;  $r_0$  — внутреннее сопротивление источника.

ЭДС источника с достаточной точностью измеряется современным высокоомным вольтметром как напряжение на его зажимах при отсутствии нагрузки. Для определения внутреннего сопротивления источника необходимо измерить напряжение  $U$  на его зажимах при нагрузке на резистор  $R$ . С учетом результата этого измерения для конкретной гальванической батареи ее внутреннее сопротивление при нагрузке на конкретный резистор  $R$  определяется как

$$r_0 = E(R - 1) / U. \quad (2)$$

Это значение  $r_0$  следует принять при определении тепловой мощности используемого источника теплового потока по формуле (1). В качестве гальванической батареи применяется миниатюрный элемент питания для наручных часов.

#### РАССМАТРИВАЕМАЯ МОДЕЛЬ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Использование микрокалориметра в лаборатории экологической физиологии растений было направлено на изучение процессов роста и адаптации растений к различным факторам среды. Математическая модель, разработанная Л.Д. Хансеном с соавторами [2, 3], позволяет оценить рост растения по показателям теплопродукции и выделения  $\text{CO}_2$  растительной тканью. Согласно этой модели, скорость роста пропорциональна разнице между двумя параметрами дыхания. Первый параметр — это коэффициент изменения энтальпии при окислении органических соединений, равный 455, умноженный на скорость выделения углекислого газа ( $R_{\text{CO}_2}$ ), измеряемую калориметрически. Второй параметр — это скорость метаболическо-

го тепловыделения ( $q$ ). Разница этих параметров может быть представлена формулой:

$$\Delta H_{\text{B}} R_{\text{SG}} = 455 R_{\text{CO}_2} - q; \quad (3)$$

где  $\Delta H_{\text{B}} R_{\text{SG}}$  — скорость роста, мкВт/мг, сухой массы; 455 — изменение энтальпии на нмоль кислорода, используемого для окисления органических соединений, мкВт/нмоль;  $R_{\text{CO}_2}$  — скорость выделения углекислого газа, нмоль/мг, сухой массы;  $q$  — скорость метаболического тепловыделения, мкВт/мг, сухой массы.

Для исследования модели и методики применения калориметра Биотест-2 в лаборатории были проведены измерения калориметрическим методом тепловыделения, дыхания и скорости роста растений в норме и при стрессе. Определение скорости роста растений проводили в соответствии с описанной выше моделью Л.Д. Хансена. Скорость выделения углекислого газа определяли по методу двух измерений тепловыделения в изолированной системе, приведенному в [2, 3]. В соответствии с этим методом второе измерение проводилось при наличии внутри ячейки раствора щелочи.

В качестве объектов при исследовании тепловыделения, дыхания и скорости роста использовали 3-дневные проростки двух сортов растений ячменя *Hordeum distichum* L. сорта "Дина" и сорта "Новичок". По сортовым характеристикам оба сорта являются схожими, однако по скороспелости сорт "Новичок" уступает сорту "Дина" [4].

Для оценки стрессового воздействия использовали 6-дневные проростки ячменя сорта "Новичок", выращенные в комнатных условиях в присутствии стрессора — метилфосфонофой кислоты (МФМ) в концентрации  $5 \times 10^{-5}$  моль/л и 0.01 моль/л. Измерения теплопродукции и дыхания проводили при 20 °C на 6-е сутки прорастания.

Для исследования температурной зависимости тепловыделения, дыхания и скорости роста использовали почки сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) и сирени венгерской (*Syringa josikaea* Jacq.). Почки отбирали в Ботаническом саду Института биологии Коми НЦ УрО РАН в конце мая — начале июня 2006 г. Для измерений использовали раскрывшиеся вегетативные почки без покровных чешуй. Скорость теплопродукции и дыхания измеряли в диапазоне температуры 5–25 °C с шагом в 5 °C. Биологическая повторность измерений при каждой температуре была равна семи. Ниже на рисунках использованы средние арифметические величины со стандартной ошибкой.

Оба вида сирени являются кустарниками и интродуцированы более 50 лет назад. Виды отличаются устойчивостью к низким температурам.

При измерении функциональных показателей

(тепловыделения и дыхания) образцы помещали в герметичный, светонепроницаемый контейнер. Теплопродукцию ( $q$ ) определяли прямым калориметрированием с помощью многоканального изотермического микрокалориметра Биотест-2.

Дыхание ( $R_{CO_2}$ ) определяли по реакции выделяемого образцом  $CO_2$  с 0.4 М раствором NaOH. Для этого в калориметрическую ячейку вместе с образцом помещали сосуд с раствором NaOH, проводили прямое калориметрирование суммарного теплового эффекта, а затем по известному тепловому эффекту реакции в растворе NaOH определяли  $R_{CO_2}$ .

По результатам измерения параметров теплопродукции и дыхания рассчитывали скорость роста, согласно формуле (3) в соответствии с рассматриваемой моделью.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Сравнение тепловыделения, дыхания и скорости роста проростков ячменя (*Hordeum distichum* L.) сорта "Дина" и сорта "Новичок" отражено на диаграммах, приведенных на рис. 4. Результаты измерений показали, что у ячменя сорта "Дина" скорость роста выше на 50 %, чем у ячменя сорта "Новичок". Это хорошо согласуется с данными, полученными традиционными методами при проращивании семян и с сортовыми характеристиками рассматриваемых сортов ячменя.

Наблюдения за прорастанием показало, что семена ячменя сорта "Дина" прорастают на 3–

4 сутки, а семена сорта "Новичок" на 6–7 сутки. Сортовые характеристики, приведенные в [4], свидетельствуют о том, что ячмень сорта "Дина" отличается большей скороспелостью по отношению к сорту "Новичок".

Таким образом, можно заключить, что сортовые отличия, такие как скороспелость, у ячменя можно диагностировать уже на ранних этапах онтогенеза без применения общепринятой трудоемкой и длительной методики опытно-селекционных посевов.

На рис. 5 приведены результаты исследования влияния стрессоров на тепловыделение, дыхание и рост проростков ячменя (*Hordeum distichum* L.) сорта "Новичок". В качестве стрессора использовали метилфосфовую кислоту (МФК). Это гербицид, ингибирующий синтез ароматических аминокислот. Исследование показало, что МФК в концентрации  $5 \times 10^{-5}$  и 0.01 моль/л вызывала увеличение интенсивности дыхания по отношению к контролю в 2 раза (рис. 5, Б) и тепловыделение в 1.5 и 2 раза (рис. 5, А).

Повышение интенсивности дыхания, вероятно, связано с испытываемым растением стрессом, при котором наблюдается возрастание активности метаболических процессов. Увеличение тепловыделения объясняется тем, что тепловыделение является интегральным показателем всех реакций метаболизма, при этом дыхание является источником почти всего выделяемого растением тепла [3]. Поскольку возрастание дыхания значительнее, чем тепловыделение, то и рассчиты-

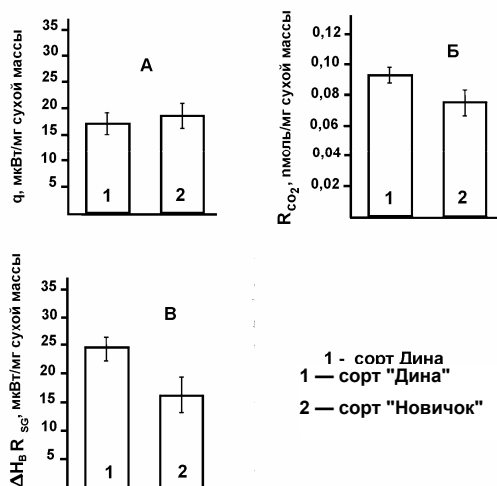


Рис. 4. Показатели метаболической активности проростков ячменя *Hordeum distichum* сортов "Новичок" и "Дина" при температуре 20 °С: тепловыделение (А), дыхание (Б), скорость роста (В)

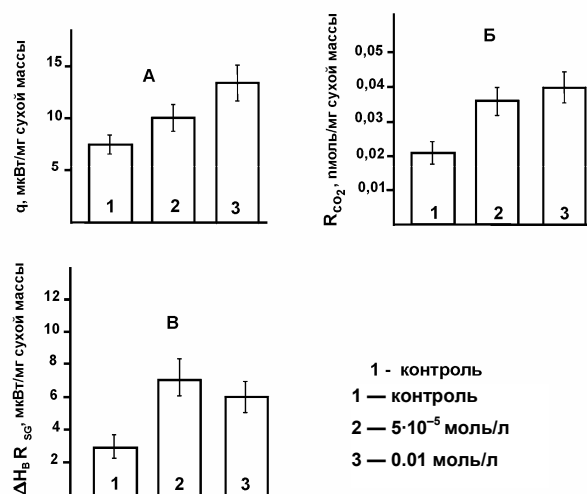


Рис. 5. Показатели метаболической активности проростков ячменя *Hordeum distichum* сорта "Новичок" в контроле и под воздействием метилфосфоновой кислоты в концентрации  $5 \times 10^{-5}$  и 0.01 моль/л при температуре 20 °С: тепловыделение (А), дыхание (Б), скорость роста (В)

ваемая на их основе скорость роста возрастает  
Данные морфометрических измерений

Концентрация МФК, моль/л	Длина, см	
	Побег	Корень
Контроль	11.7 ± 0.88	7.3 ± 0.87
5·10 <sup>-5</sup>	8.1 ± 0.65	7.0 ± 0.68
0.01	7.1 ± 0.84	2.2 ± 0.43

по отношению к контролю. При концентрации 0.01 моль/л скорость роста была в 2 раза, а при концентрации 5·10<sup>-5</sup> моль/л скорость роста была в 2.5 раза выше контроля (рис. 5, В).

Полученные калориметрические данные противоречат прямым морфометрическим измерениям, результаты которых приведены в таблице. Морфометрические измерения выявили, что растения,

подверженные действию МФК, имели меньшие размеры надземных и подземных органов. Это значит, что рассматриваемая модель не отражает все процессы в растении в условиях стресса. Увеличение дыхания действительно имеет место, но оно, по-видимому, связано не только с ростовыми процессами, а и с процессами репарации структур растения, что всегда имеет место в стрессовых состояниях, развивающихся на фоне действия повреждающих факторов [5, 6, 7]. Результатом увеличения дыхания является также усиление тепловыделения проростками, что может служить еще одним показателем стресса. В литературе имеются данные о возрастании тепловыделения у водорослей при солевом стрессе [8]. Повышение тепловыделения при действии стрессовых концентраций соли авторы связывали с преобладанием катаболических процессов, приводящих к диссипации энергии.

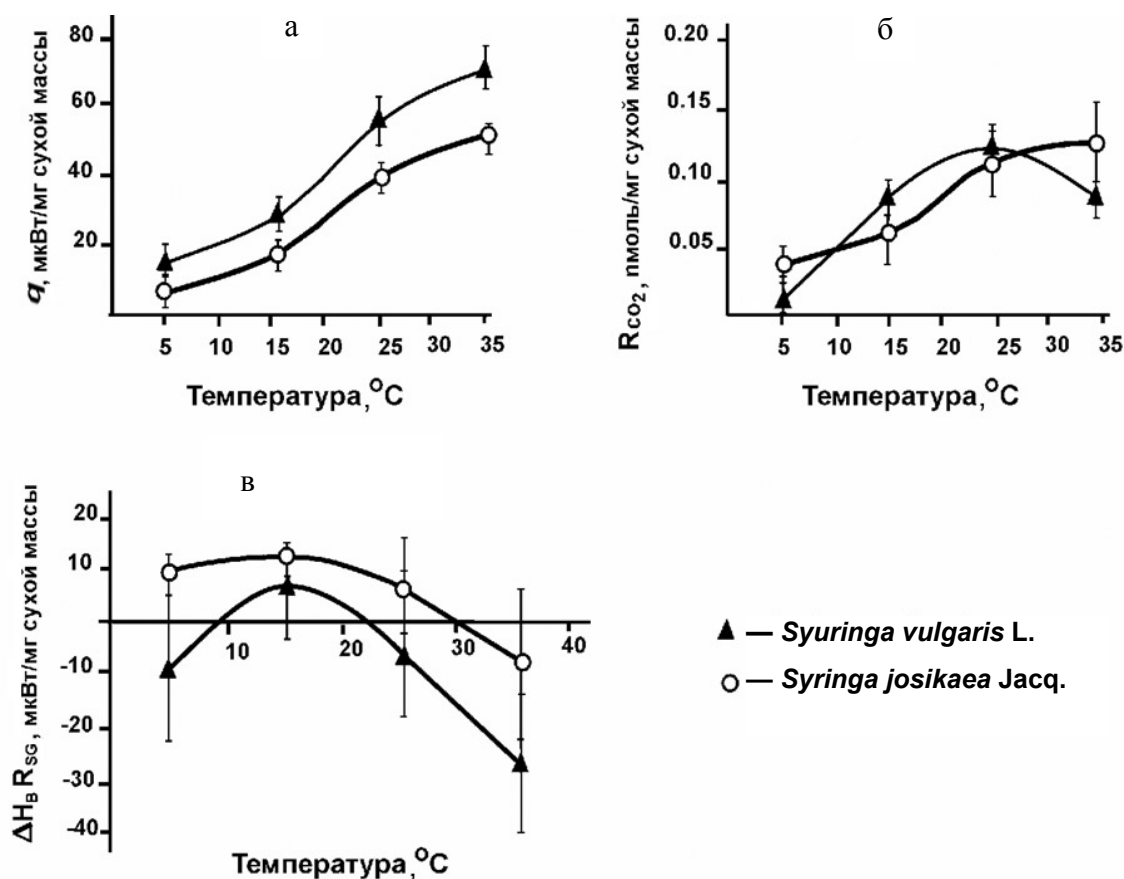


Рис. 6. Температурные зависимости метаболической активности почек *Syringa josikaea* Jacq. и *Syringa vulgaris* L.: тепловыделение (а), дыхание (б), скорость роста (в)

Таким образом, воздействие метилфосфоновой кислоты на проростки ячменя проявляется в повышении тепловыделения, дыхания и снижении скорости роста. Снижение скорости роста происходит вследствие того, что энергия, поступающая при дыхании, используется не на ростовые процессы, а на процессы репарации и поддержания целостности клеточных структур растения при действии стресс-фактора.

Результаты исследований температурных зависимостей скорости роста, теплопродукции и дыхания раскрывшихся вегетативных почек *Syringa josikaea* Jacq. и *Syringa vulgaris* L. в весенний период (май–июнь) показали, что у обоих видов скорость тепловыделения почек линейно возрастала с увеличением температуры (коэффициент корреляции 0.98): у *S. josikaea* от 5 до 50 мкВт/мг сухой массы, а у *S. vulgaris* — от 14 до 70 мкВт/мг сухой массы. Необходимо отметить, что по данному параметру *S. vulgaris* превосходила *S. josikaea* в среднем на 30 %. Принимая во внимание, что тепловыделение является интегральным показателем для всех реакций обмена и характеризует его состояние, можно заключить, что почки *S. vulgaris* отличаются более интенсивным метаболизмом.

Определение дыхания выявило, что в диапазоне от 5 до 25 °С у почек обоих видов оно сходно по интенсивности и возрастает с увеличением температуры от 0.02 до 0.1 нмоль/мг сухой массы (коэффициент корреляции 0.99). Дальнейшее повышение температуры до 35 °С по-разному влияло на дыхание почек исследуемых видов. Так, у *S. vulgaris* при высокой температуре дыхание снижалось в 1.4 раза, а у *S. josikaea* продолжало возрастать, но с меньшей интенсивностью, (рис. 6, б). Об этом свидетельствует изменение величины коэффициента  $Q_{10}$ . Для *S. josikaea*: в диапазоне 15–25 °С он равен 1.7, а при повышении температуры от 25 до 35 °С снижается до 1.1.

Расчет скорости роста по рассматриваемой модели, связывающей рост с тепловыделением и дыханием, показал следующее:

– почки *S. josikaea* способны к росту при температуре 5 °С, тогда как почки *S. vulgaris* начинали расти при температуре около 10 °С (рис. 6, в);

– рост почек *S. josikaea* более устойчив к повышенной температуре; скорость роста начинает снижаться при 25 °С; почки *S. vulgaris* способны расти в узком диапазоне температур 10–20 °С с максимумом скорости роста при 15 °С.

Таким образом, установлено, что для почек *S. josikaea* характерен более широкий температурный диапазон роста (от 5 до 25 °С), чем для почек *S. vulgaris* (от 10 до 20 °С).

## ВЫВОДЫ

Использование метода микрокалориметрии на базе калориметра Биотест-2 в сочетании с физиологически обоснованной моделью Л.Д. Хансена с соавт. (1996) в физиологии растений позволяет:

- определять стрессовые температуры и температуры оптимума роста;
- изучать метаболизм растений в норме и при стрессе;
- характеризовать устойчивость растений к факторам стресса;
- ранжировать сорта растений по скорости роста;
- отбирать культурные растения, являющиеся наиболее приспособленными к необходимым условиям среды.

Эти возможности можно применить для создания современных методов эффективной объективной инструментальной сравнительной оценки зрелости сортов растений, их устойчивости к воздействию климатических и поражающих факторов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойко Б.Н. Прикладная микрокалориметрия. Отечественные приборы и методы. М.: Наука, 2006. 120 с.
2. Hansen L.D., Hopkin M.S., Rank D.R., Anekonda T.S., Braidenbach R.W., Criddle R.S. The relation between plant growth and respiration: A Thermodynamic Model // *Planta*. 1994. V. 194. P. 77–85.
3. Хансен Л.Д., Тейлор Д.С., Смит Б.Н., Кридл Р.С. Связь между ростом растений и дыханием: экологические аспекты и отбор лучших сортов культурных растений // *Физиология растений*. 1996. Т. 43, № 6. С. 805–812.
4. Головки Т.К., Родина Н.А., Куренкова С.В., Табаленкова Г.Н. Ячмень на Севере (селекционно-генетические и физиолого-биохимические основы продуктивности). Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 155 с.
5. Семихатова О.А. Энергетика дыхания в норме и при экологическом стрессе. Л.: Наука, 1990. 72 с.
6. Головки Т.К. Дыхание растений (физиологические аспекты). СПб.: Наука, 1999. 204 с.
7. Рахманкулова З.Ф., Мукминова Г.Х., Усманов И.Ю. Оценка адаптационных затрат на основе анализа изменений роста и составляющих дыхания у растений с разной устойчивостью к водному стрессу // *Вестник Башкирского университета*. 2001. № 2 (I) С. 71–73.
8. Лосева Я.Л., Кашина О.А., Рахимова Г.Г. Ско-



рость выделения тепла как возможный показатель адаптивности растительной клетки к условиям окружающей среды // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 3. С. 455–458.

*Институт биологического приборостроения РАН, Лаборатория теплофизических приборов и методов исследований, Моск. обл., г. Пушкино (Бойко Б.Н., Соломина З.Ф.)*

*Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Лаборатория экологической физиологии растений, г. Сыктывкар (Малышев Р.В., Огородникова С.Ю.)*

Материал поступил в редакцию 18.09.2008.

## DIFFERENTIAL MICROCALORIMETER FOR RESEARCH OF METABOLIC PROCESSES IN LIVING STRUCTURES AND ITS APPLICATION IN PHYSIOLOGY OF PLANTS

**B. N. Boiko<sup>1</sup>, R. V. Malyshev<sup>2</sup>, S. Yu. Ogorodnikova<sup>2</sup>, Z. F. Solomina<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Institute for Biological Instrumentation RAS, Laboratory of Thermal Devices and Methods of Investigation, Moscow region, Pushchino*

<sup>2</sup>*Institute of Biology Komi Science Center of Ural Department RAS, Laboratory of Ecologic physiology of plants, Syktyvkar*

A differential microcalorimeter is described, which is intended for studying the effect of the environmental conditions on the intensity of metabolic processes in biological structures and tissues. The instrument enables to obtain dependencies of the process intensity on temperature and chemical effects. Methods and results of the studies on the effect of temperature on respiration and growth rate for two species of barley (*Hordeum distichum* L.) and two species of lilac are described. Studies were carried out to investigate the effect of various concentrations of methylphosphoric acid on respiration intensity and growth rate in barley (*Hordeum distichum* L.) plantlets. The results allow to make a comparative evaluation of early-maturing varieties, their resistance to the influences of climatic and detrimental factors.

*Keywords:* calorimeter, growth rate, heat production, *Hordeum distichum* L., *Syringa josikaea* Jacq., *Syringa vulgaris* L.