



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

Ειδικές μέθοδοι ανάλυσης κυτταρικών διεργασιών

Προσδιορισμός οσμωτικών τιμών φυτικών
κυττάρων

Αναστασία Παπαδάκη

Τμήμα Βιολογίας

Το νερό είναι σημαντικό για τη ζωή του φυτικού κυττάρου!!!

Αν γνωρίζουμε την υδατική κατάσταση ενός φυτού μπορούμε να προβλέψουμε αν πάσχει από υδατική καταπόνηση.



ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΡΟΛΟΙ ΤΟΥ ΝΕΡΟΥ:

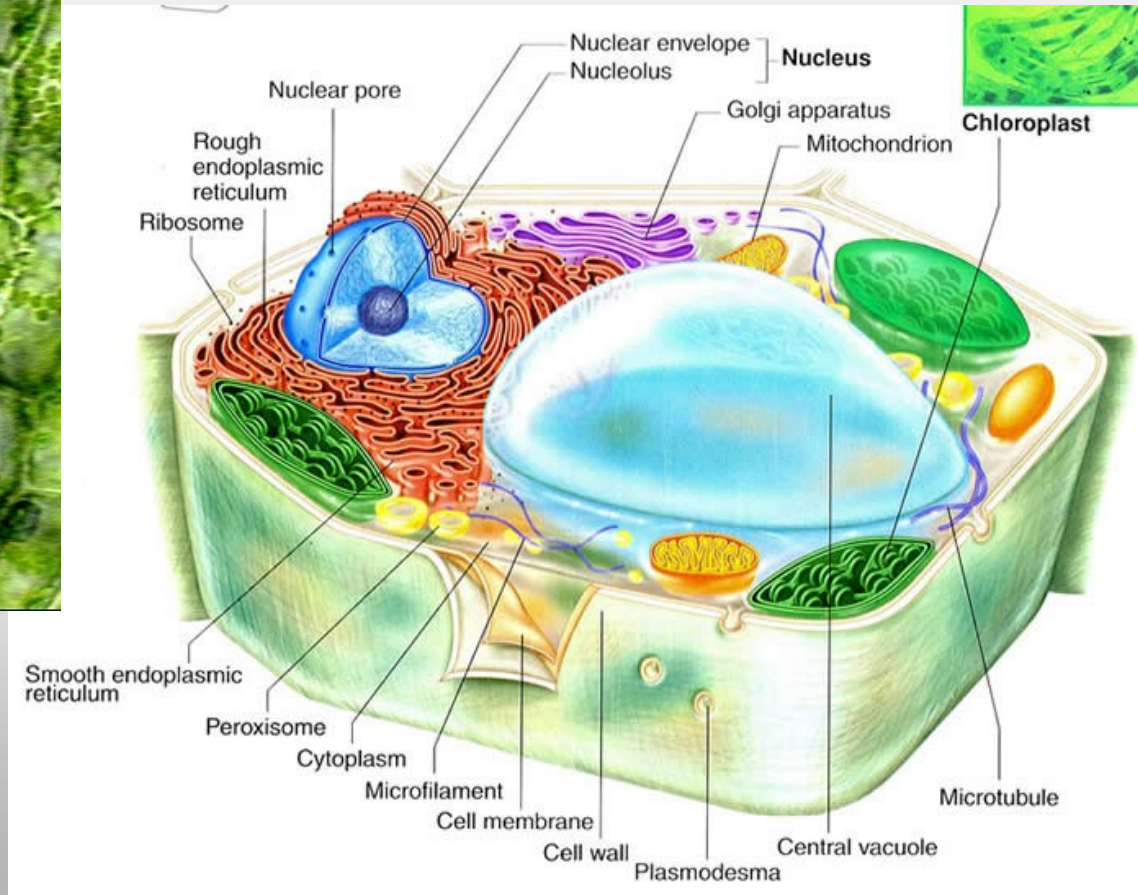
- Το νερό είναι **άριστος διαλύτης**
- Παίρνει ενεργό μέρος στο **μεταβολισμό**
- Αποτελεί την πηγή του O_2 που εκλύεται κατά τη **φωτοσύνθεση**
- Συμμετέχει στη **ρύθμιση της θερμοκρασίας** των οργανισμών
- Στο εσωτερικό του φυτού κινείται **μεταφέροντας ανόργανες και οργανικές ουσίες**

ΚΙΝΗΣΗ ΤΟΥ ΝΕΡΟΥ ΣΕ ΜΙΚΡΕΣ ΑΠΟΣΤΑΣΕΙΣ

Elodea Leaf



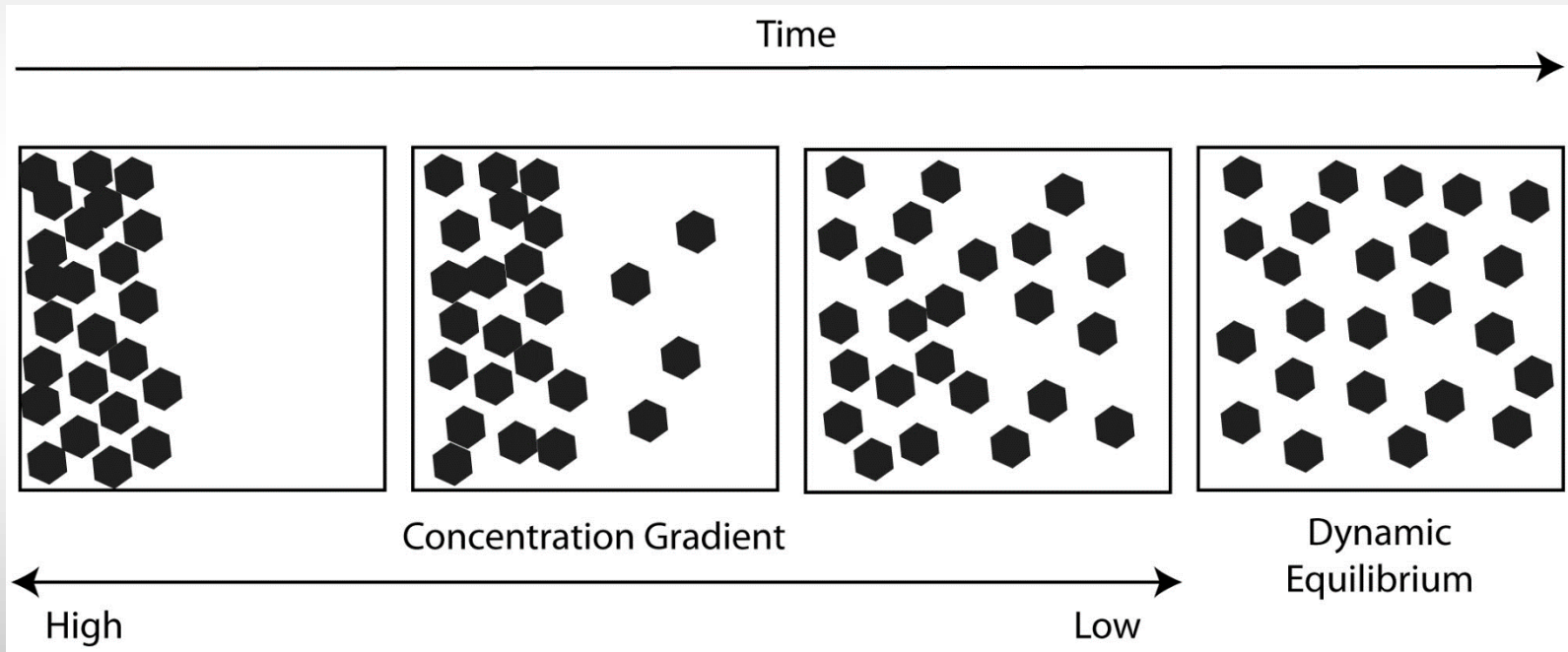
http://www.xtec.es/~imartin6/1/hotpot/essesr_vius/imatges/elodea_cells.jpg



http://eahall3.pvusd.net/staff/levy/images/Plant_Cell2.jpg

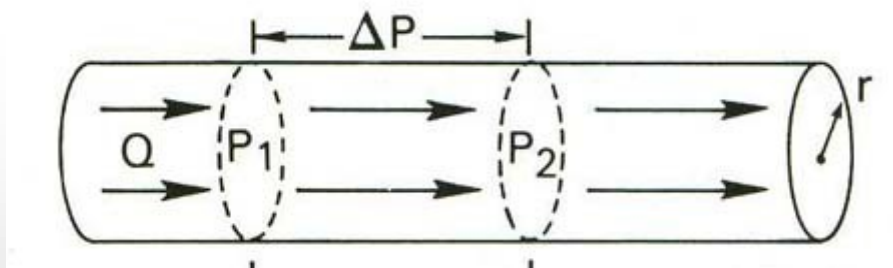
Μηχανισμοί Κίνησης του Νερού

1. **Διάχυση** = η κίνηση των μορίων κατά μήκος μιας διαβάθμισης συγκέντρωσης.



2. **Μαζική ροή (Massive flow)**= η μετακίνηση του νερού και των διαλυμένων ουσιών σε μεγάλες αποστάσεις εντός του φυτού ως απόκριση σε διαβάθμιση πίεσης.

Η μαζική ροή, με κινητήρια δύναμη την πίεση, είναι ο κυριότερος μηχανισμός για τη **μετακίνηση του νερού σε μεγάλες αποστάσεις** των αγγείων του ξύλου.

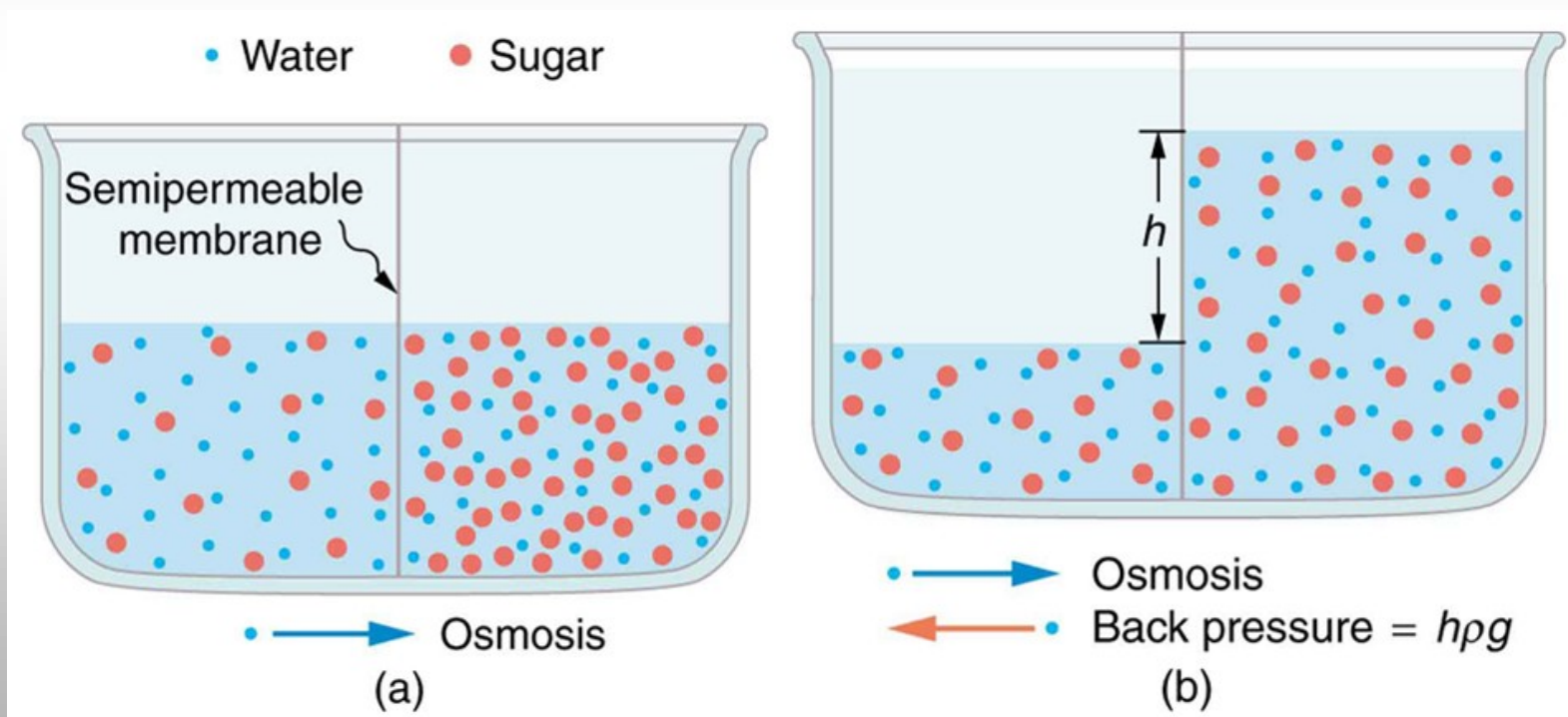


[http://www.cai.md.chula.ac.th/lesson/lesson47111/images/1poiseuille_la
w.jpg](http://www.cai.md.chula.ac.th/lesson/lesson47111/images/1poiseuille_la
w.jpg)

Όπου $P_1 > P_2$, αποκαθίσταται μαζική ροή προς τα δεξιά.

3. **Όσμωση** = κίνηση νερού μέσω μιας ημιπερατής μεμβράνης

Η οσμωτική κίνηση είναι αυθόρμητη, με κινητήρια δύναμη την **διαβάθμιση συγκέντρωσης και πίεσης**: η κατεύθυνση κίνησης του νερού είναι αποτέλεσμα της συνισταμένης τους.



Τι καθορίζει την κατεύθυνση
μετακίνησης του νερού?

ΧΗΜΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΝΕΡΟΥ

Το **χημικό δυναμικό του νερού** ή το **υδατικό δυναμικό** (water potential, Ψ) εκφράζει την ελεύθερη ενέργεια του νερού ή την ικανότητα παραγωγής έργου.

Πρότυπη κατάσταση: Ψ του απεσταγμένου νερού σε κανονική ατμοσφαιρική πίεση ορίζεται αυθαιρέτως το μηδέν.

Το παραγόμενο έργο είναι η μεταφορά του νερού:

το νερό θα κινηθεί αυθορμήτως από την περιοχή με υψηλό δυναμικό προς αυτήν με χαμηλό δυναμικό.

Παράγοντες που επηρεάζουν το δυναμικό του νερού

- ∅ Η συγκέντρωση του διαλύματος, Ψ_s
- ∅ Η πίεση, Ψ_p
- ∅ Η βαρύτητα, Ψ_G

$$\Psi = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_G$$

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ, Ψ_s

Το μέγεθος της Ψ_s δίνεται από τον τύπο του **van't Hoff**:

$$\Psi_s = -iMRT$$

i = συντελεστής ιονισμού της διαλυμένης ουσίας

M = η γραμμομοριακή συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας (M , mol/L)

R = σταθερά των αερίων ($0,0083143 \text{ L} \cdot \text{MPa} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)

T = απόλυτη θερμοκρασία ($^{\circ}\text{K}$)

@ Το μέγεθος $iMRT$ έχει επικρατήσει ως ωσμωτική πίεση ή ωσμωτικό δυναμικό, έχει μονάδες πίεσης

@ Το αρνητικό πρόσημο σημαίνει ότι οι διαλυμένες ουσίες μειώνουν το δυναμικό του νερού.

@ Η ωσμωτική πίεση είναι μια αθροιστική ιδιότητα των διαλυμάτων, εξαρτώμενη από τον αριθμό των διαλυμένων μορίων και ανεξάρτητη από τη φύση των μορίων

Πίεση, Ψ_p

Αν στο καθαρό νερό υπό ατμοσφαιρική πίεση (δηλαδή $\Psi=0$) εφαρμοστεί επί πλέον πίεση, το δυναμικό του αυξάνει ανάλογα με την εφαρμοσθείσα πίεση P .

Στο εσωτερικό των φυτικών κυττάρων, λόγω του σχεδόν ανελαστικού κυτταρικού τοιχώματος, αποκαθίσταται θετική υδροστατική πίεση, που συνήθως ονομάζεται πίεση σπαργής.

Το δυναμικό νερού Ψ ενός διαλύματος είναι:

$$\Psi = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g$$

Για μικρές υψομετρικές διαφορές ($G =$ αμελητέα):

$$\Psi = \Psi_s + \Psi_p$$

Τότε, το Ψ είναι συνάρτηση δύο παραγόντων:

- της ωσμωτικής του πίεσης (δηλαδή της συγκέντρωσης των διαλυμένων ουσιών) και
- της εφαρμοζόμενης υδροστατικής πίεσης

Σε ανοιχτά δοχεία, ο τύπος απλοποιείται ακόμη περισσότερο:

$$\Psi = \Psi_s = -miRT$$

Το Ψ των φυτικών κυττάρων έχει δυο στοιχεία και είναι πάντα αρνητικό.

- **Δυναμικό Πίεσης**

+ Θετικό \longrightarrow Σπαργή (in cells with membranes)

- Αρνητικό \longrightarrow Υποπίεση-Tension (in xylem)

- **Ωσμωτικό Δυναμικό**

- Αρνητικό

ανακεφαλαίωση

- $\Psi_W = 0 \text{ MPa}$ Definition of Pure H_2O ,
under no pressure
- $\Psi_W = \Psi_P + \Psi_S$ - Pressure potential increases
water potential
- Solute Potential decreases
(gets more negative) with
increasing solute concentration,
thus, lowering water potential

Το φυτικό κύτταρο ως ωσμωτικό σύστημα

Ένα τυπικό φυτικό κύτταρο είναι ένα **ιδεώδες ωσμωτικό σύστημα**,
γιατί:

1. Παρουσία των ημιπερατών μεμβρανών
2. Στο κυτταρόπλασμα υπάρχουν διαλυμένες ουσίες, άρα υπάρχει συγκεκριμένη **ωσμωτική πίεση Ψ_s** .
3. Το τοίχωμα, ως ανελαστικό, αντιστέκεται στην αύξηση του όγκου του κυττάρου, αποκαθιστώντας στο εσωτερικό του **υδροστατική πίεση Ψ_p** .

Το Ψ_s και το Ψ_p καθορίζουν το δυναμικό νερού Ψ του συγκεκριμένου κυττάρου.

Για να δούμε την επίδραση που έχουν διαλυμένες ουσίες στο υδατικό δυναμικό, ας υπολογίσουμε το υδατικό δυναμικό του διαλύματος 0,10 M της σακχαρόζης. Το υδροστατικό δυναμικό (Ψ_p) του διαλύματος αυτού είναι ίσο με μηδέν, επειδή το ποτήρι είναι ανοικτό σε ατμοσφαιρική πίεση και δεν εφαρμόζεται επιπλέον πίεση. Για το διάλυμα 0.10 M σακχαρόζης, το Ψ_s του διαλύματος, είναι -0.244 MPa. Αυτή η μετατροπή γίνεται με τη χρήση της εξίσωσης Van't Hoff.

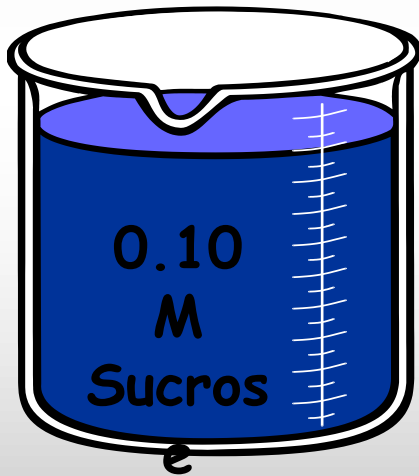
$$\Psi_s = -iMRT = -1 * 0,1 \text{ mol/l} * 0,0083143 \text{ L*MPa*mol}^{-1}\text{*}^\circ\text{K}^{-1} * 300 \text{ }^\circ\text{K}^{-1} = -0.244 \text{ MPa}$$



$$\Psi_p = 0 \text{ MPa}$$

$$\Psi_s = -0.244 \text{ MPa}$$

Επομένως το Ψ_w είναι:



$$\Psi_w = \Psi_p + \Psi_s$$

$$\Psi_w = 0 \text{ MPa} + (-0.244 \text{ MPa})$$

$$\underline{\Psi_w = -0.244 \text{ MPa}}$$

Έτσι μειώνουμε το υδατικό δυναμικό προσθέτοντας διαλυμένη ουσία, δηλαδή «αραιώνουμε» το νερό.

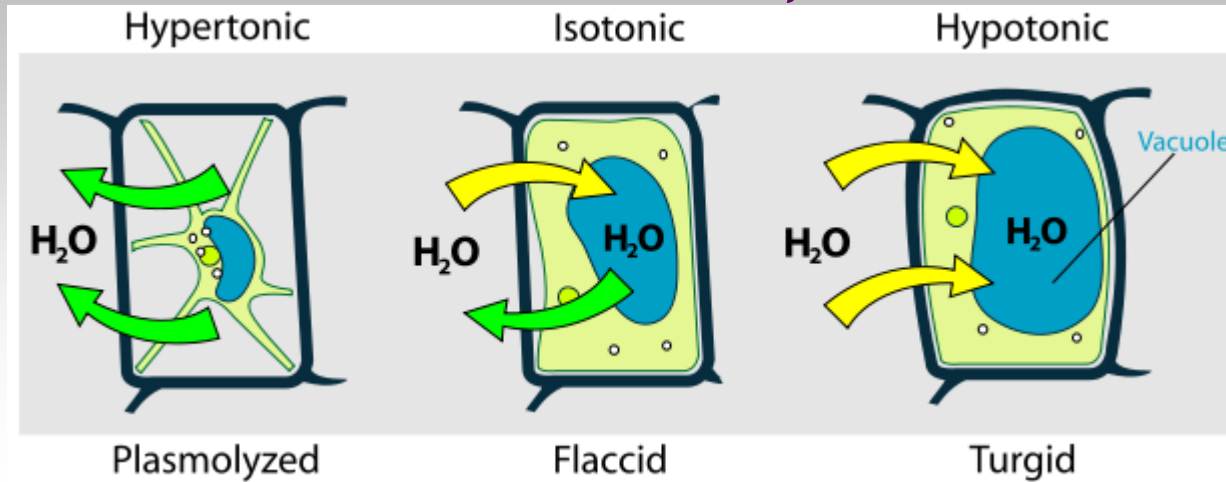
$$\Psi_w (\text{Pure H}_2\text{O}) = 0 \text{ MPa}$$



$$\Psi_w (0.10 \text{ M Sucrose}) = - 0.244 \text{ MPa}$$

Το φυτικό κύτταρο σε ισότονο διάλυμα

Ψ Plant cell = -0,1 MPa

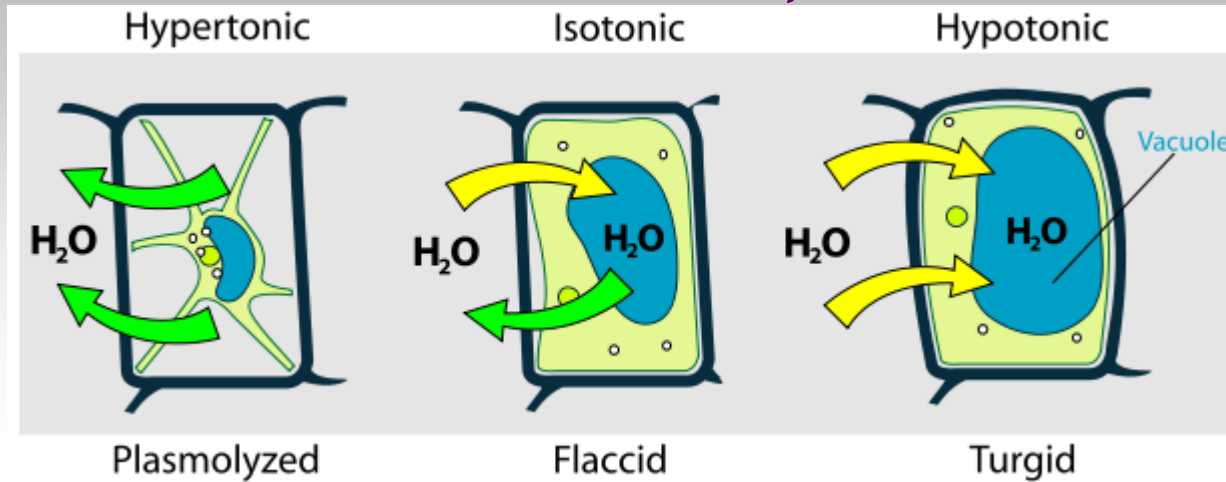


Ψ Εξωτερικού διαλύματος

-0,1 MPa

Το φυτικό κύτταρο σε υπότονο διάλυμα

$$\Psi_{\text{Plant cell}} = -0,1 \text{ MPa}$$



$$\Psi_{\text{Εξ. Διάλ.}} = 0 \text{ MPa}$$

Σε ισοροπία:

$$\Psi_{\text{cell}} = \Psi_s = 0$$

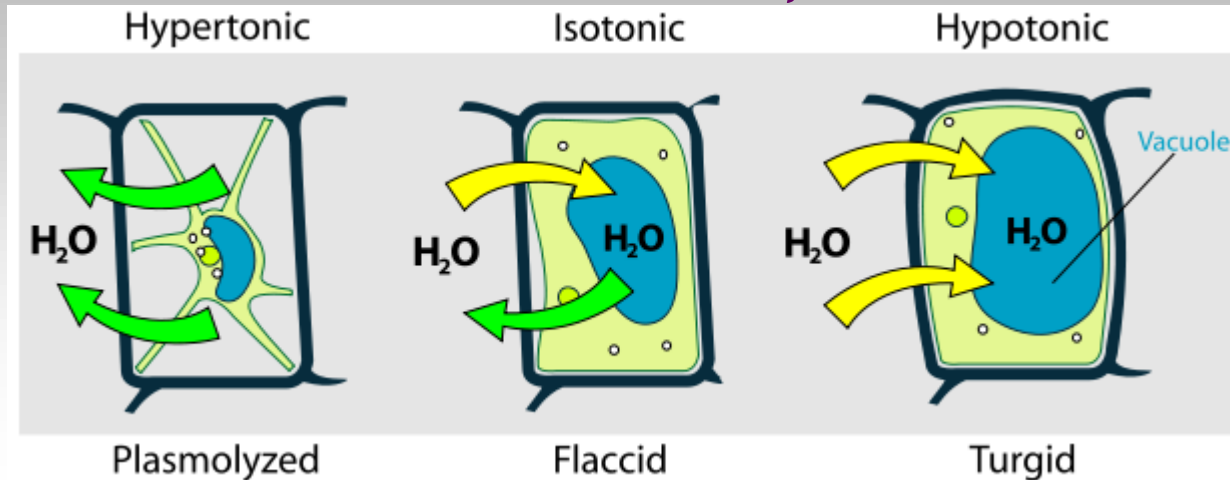
$$\Psi_{\text{cell}} = -\Psi_s + \Psi_p = 0$$

$$\Psi_s = \Psi_p$$

Μεγιστη τιμή Ψ

Το φυτικό κύτταρο σε υπέρτονο διάλυμα

$$\Psi_{\text{Plant cell}} = -0,1 \text{ MPa}$$



$$\Psi_{\text{Εξ. Διάλ.}} = -0,25 \text{ MPa}$$

Σε ισοροπία:

$$\Psi_{\text{cell}} = \Psi_{\delta}$$

$$\Psi_{\text{cell}} = -\Psi_s + \Psi_p, \Psi_p = 0$$

$$\Psi_{\text{cell}} = \Psi_s$$

Αρχόμενη πλασμόλυση

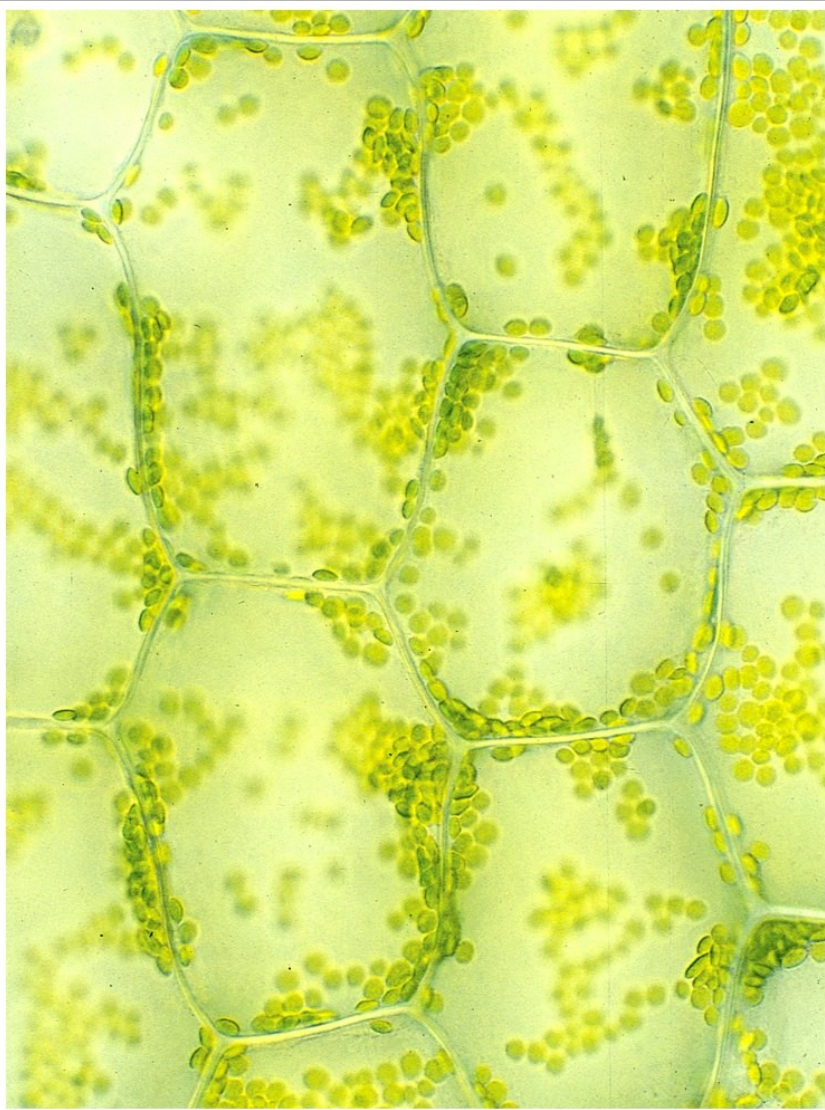


Figure 4-8a
Biology of Plants, Seventh Edition
© 2005 W. H. Freeman and Company

ΥΓΙΕΣ ΚΥΤΤΑΡΟ

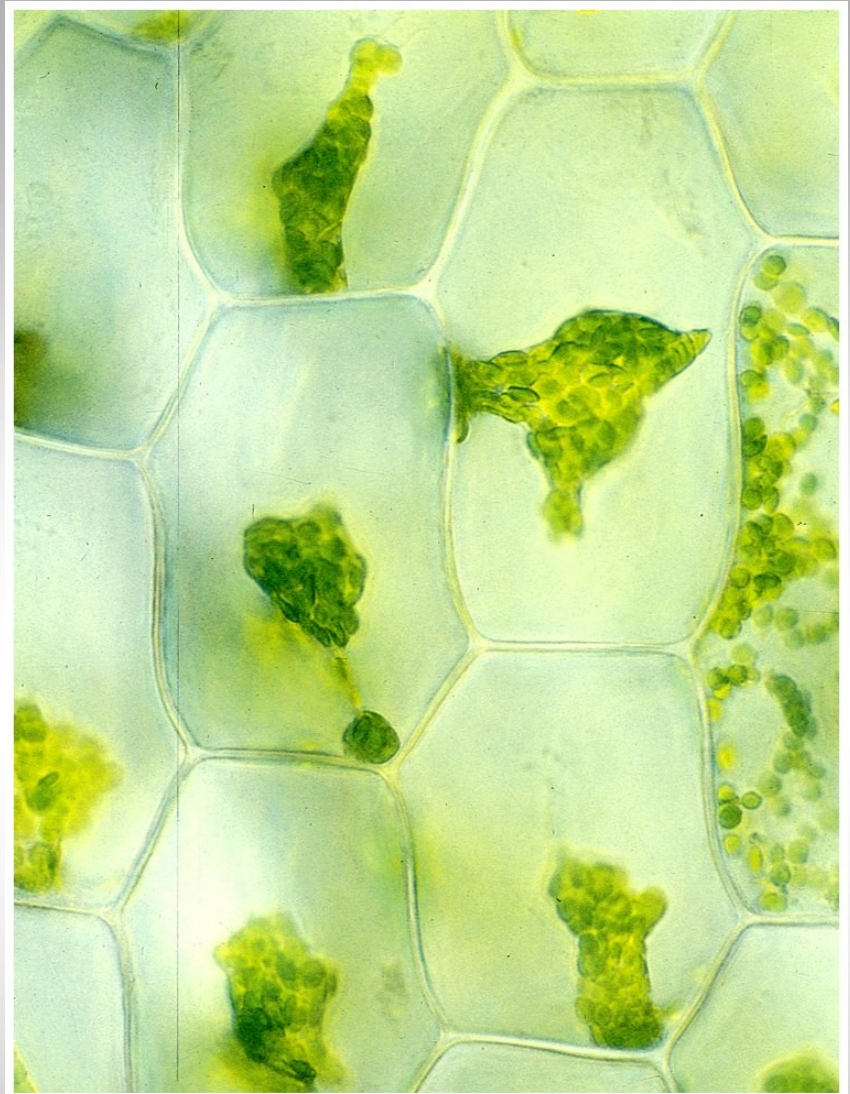


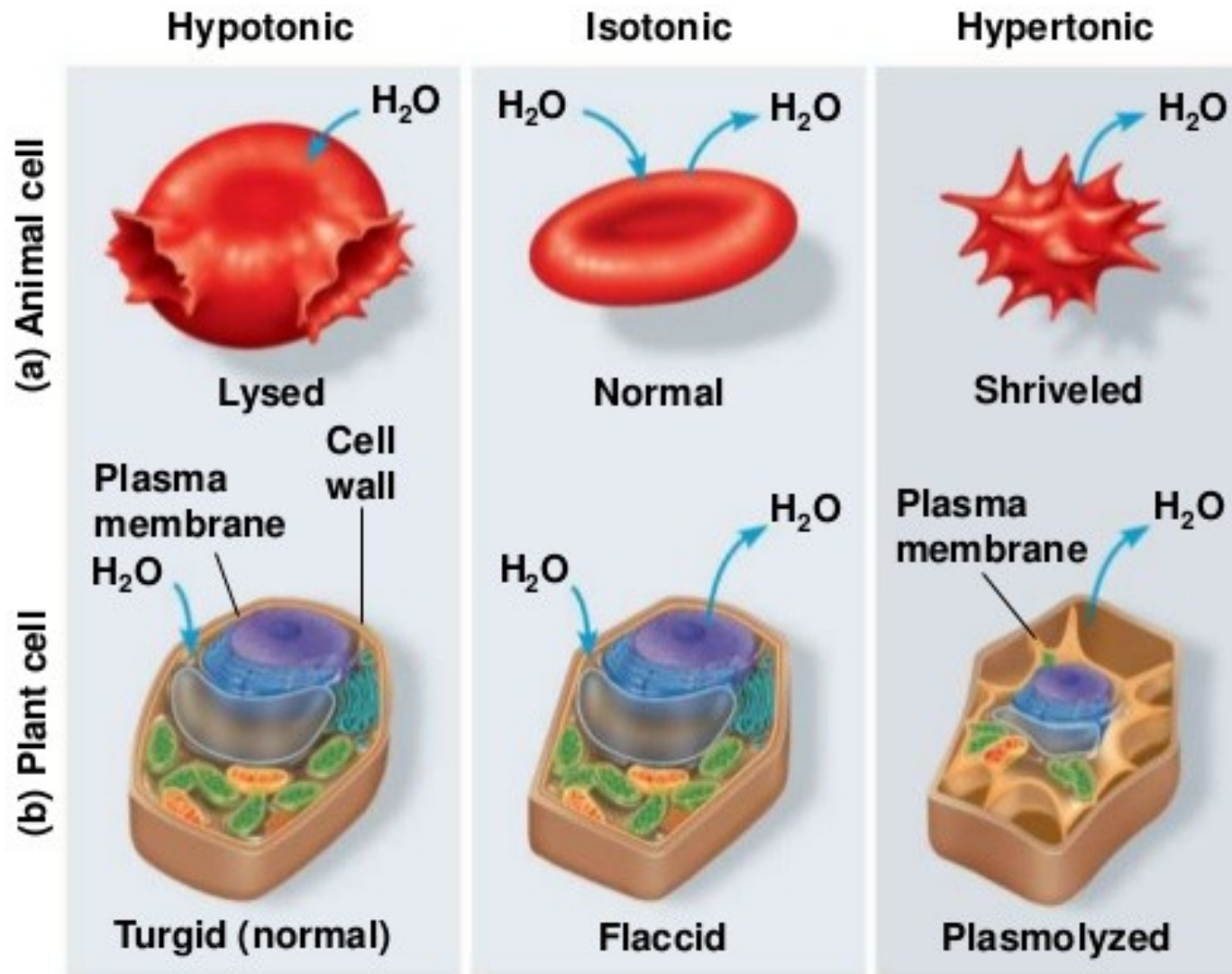
Figure 4-8b
Biology of Plants, Seventh Edition
© 2005 W. H. Freeman and Company

**ΠΛΑΣΜΟΛΥΜΕΝΟ
ΚΥΤΤΑΡΟ**

- **Θετική πίεση σπαργής** είναι απαραίτητη για την αύξηση ενός κυττάρου.
- Η **πλασμόλυση** (δηλαδή η απώλεια σπαργής), είναι η αιτία της «μαραμένης» όψης των φυτικών οργάνων.
- Η **Θετική πίεση σπαργής** είναι αυτή που κρατά όρθια τα μέρη των φυτών που δεν διαθέτουν ξύλο ή σκληροεγχυματικούς σχηματισμούς

•

Figure 7.12



Χρήση του υδατικού δυναμικού στην εκτίμηση της υδατικής κατάστασης των φυτών

- Το υδατικό δυναμικό μπορεί να εκτιμηθεί ποσοτικά με μια σειρά μεθόδων.
- Η γνώση του υδατικού δυναμικού (Ψ) σε δύο περιοχές υποδεικνύει την κατεύθυνση μετακίνησης του νερού, αφού θα κινηθεί από περιοχές με υψηλό προς αυτές με χαμηλό δυναμικό.
- Η τιμή του υδατικού δυναμικού είναι ένα μέτρο της ενδεχόμενης υδατικής καταπόνησης ενός φυτού. Για κάθε φυτό υπάρχει ένα Ψ κάτω από το οποίο σταματούν ζωτικές λειτουργίες του.

Methods and Instruments

$$\Psi_W = \Psi_P - \Psi_S$$

- **Constant Volume Method**
 - **Pressure Chamber**
- **Cryoscopic Osmometer**
 - **Psychrometer**

Constant Volume Method

Η μέθοδος σταθερού όγκου χρησιμοποιεί το υδατικό δυναμικό γνωστών διαλυμάτων για την εκτίμηση του Ψ φυτικού ιστού.

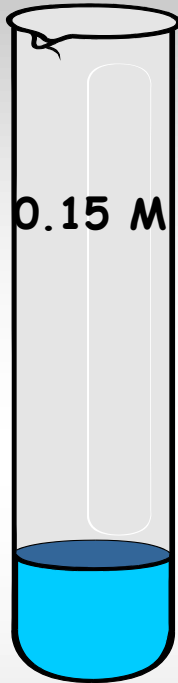
Προϋπόθεση:

1. Η υδροστατική πίεση είναι μηδενική επειδή οι δοκιμαστικοί σωλήνες είναι ανοιχτοί

$$\Psi_p = 0 \text{ MPa}$$

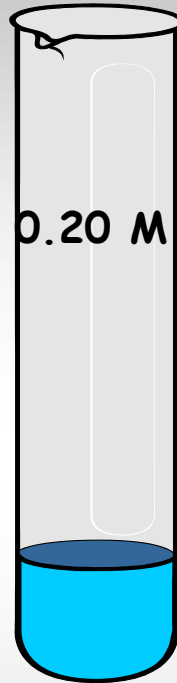
2. Το υδατικό δυναμικό του φυτικού ιστού μπορεί να θεωρηθεί ίσο προς το υδατικό δυναμικό του διαλύματος όταν εκεί δεν υπάρχει καθαρή κίνηση του νερού μεταξύ του ιστού των φυτών και του διαλύματος.





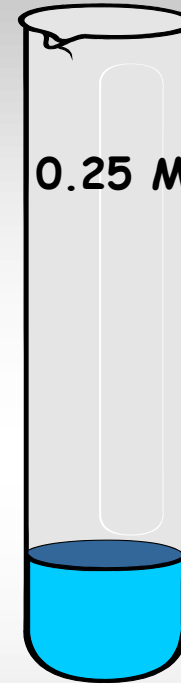
0.15 M SUCROSE

$$\Psi_w = -0.367 \text{ MPa}$$



0.20 M SUCROSE

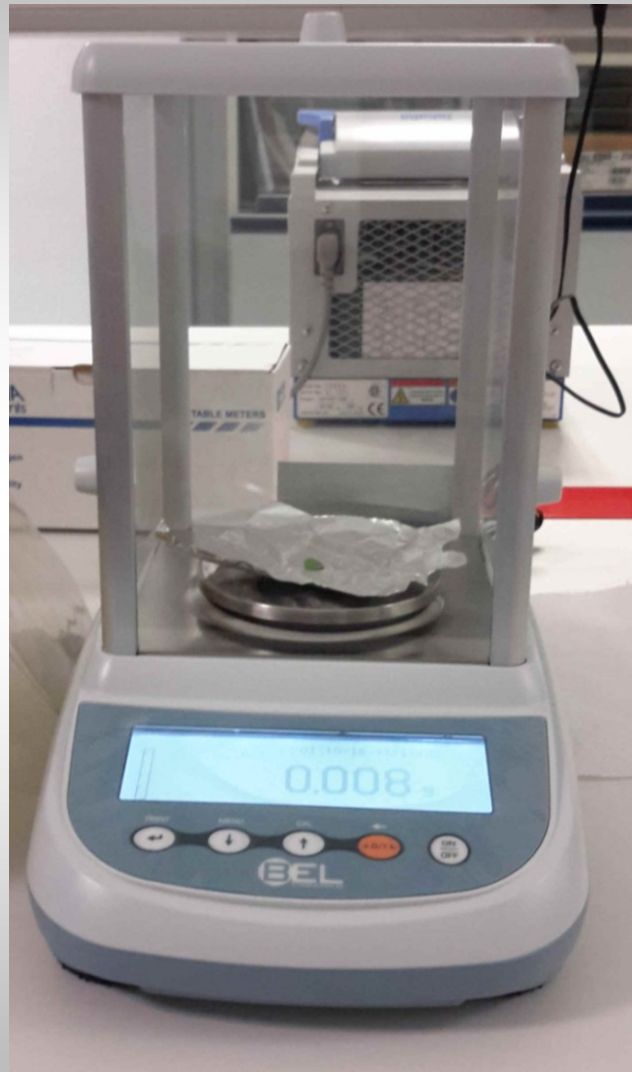
$$\Psi_w = -0.489 \text{ MPa}$$



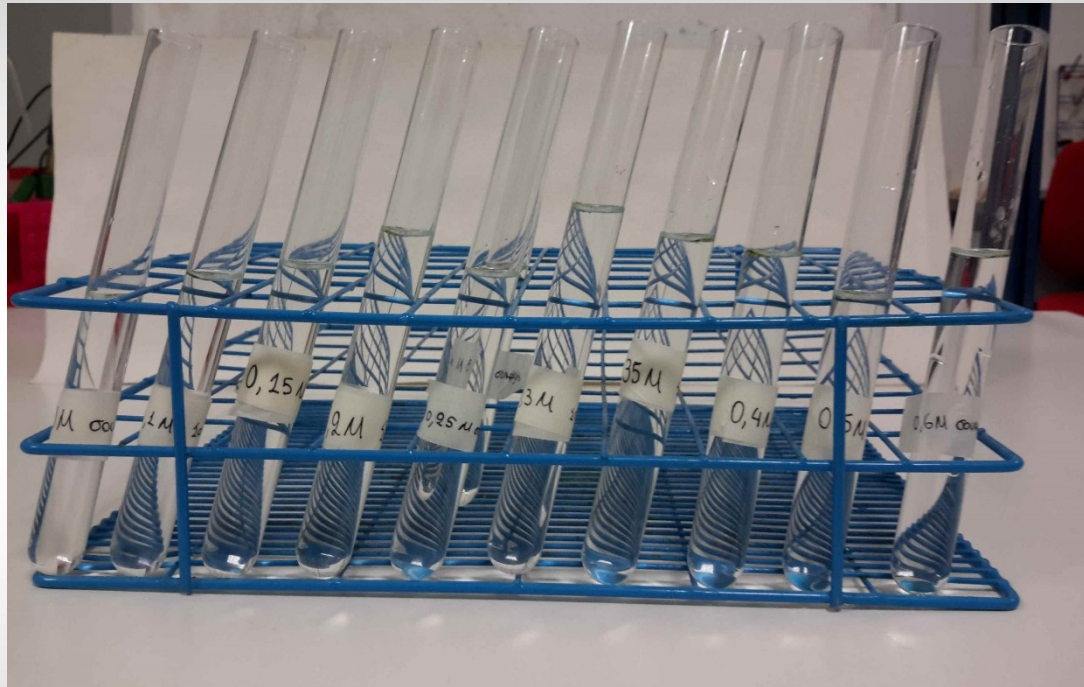
0.25 M SUCROSE

$$\Psi_w = -0.612 \text{ MPa}$$

Κόβουμε φυλλικούς δίσκους και τους ζυγίζουμε.



Τοποθετούμε τους φυλλικούς δίσκους στα διαλύματα.



Μετά από μια ώρα ξαναζυγίζουμε τους φυλλικούς δίσκους.





$M_{(\text{soln})}$	Initial	Final	ΔWgt
0,15	0.005 g	0.006 g	+ 0.001 g
0,20	0.005 g	0.005 g	0 g
0,25	0.005 g	0.004 g	- 0.001 g

Εάν ο φυλλικός δίσκος αποκτήσει βάρος, τότε το νερό μετακινείται από το διάλυμα μέσα στο φυλλικό δίσκο. Το δυναμικό του νερού του διαλύματος ήταν υψηλότερο από το δυναμικό του νερού του φυλλικού δίσκου.



M	Initial	Final	+/- Wgt
0,15	0.005 g	0.006 g	+ 0.001 g

$$\Psi_{w(\text{leaf})} < \Psi_{w(\text{soln})}$$

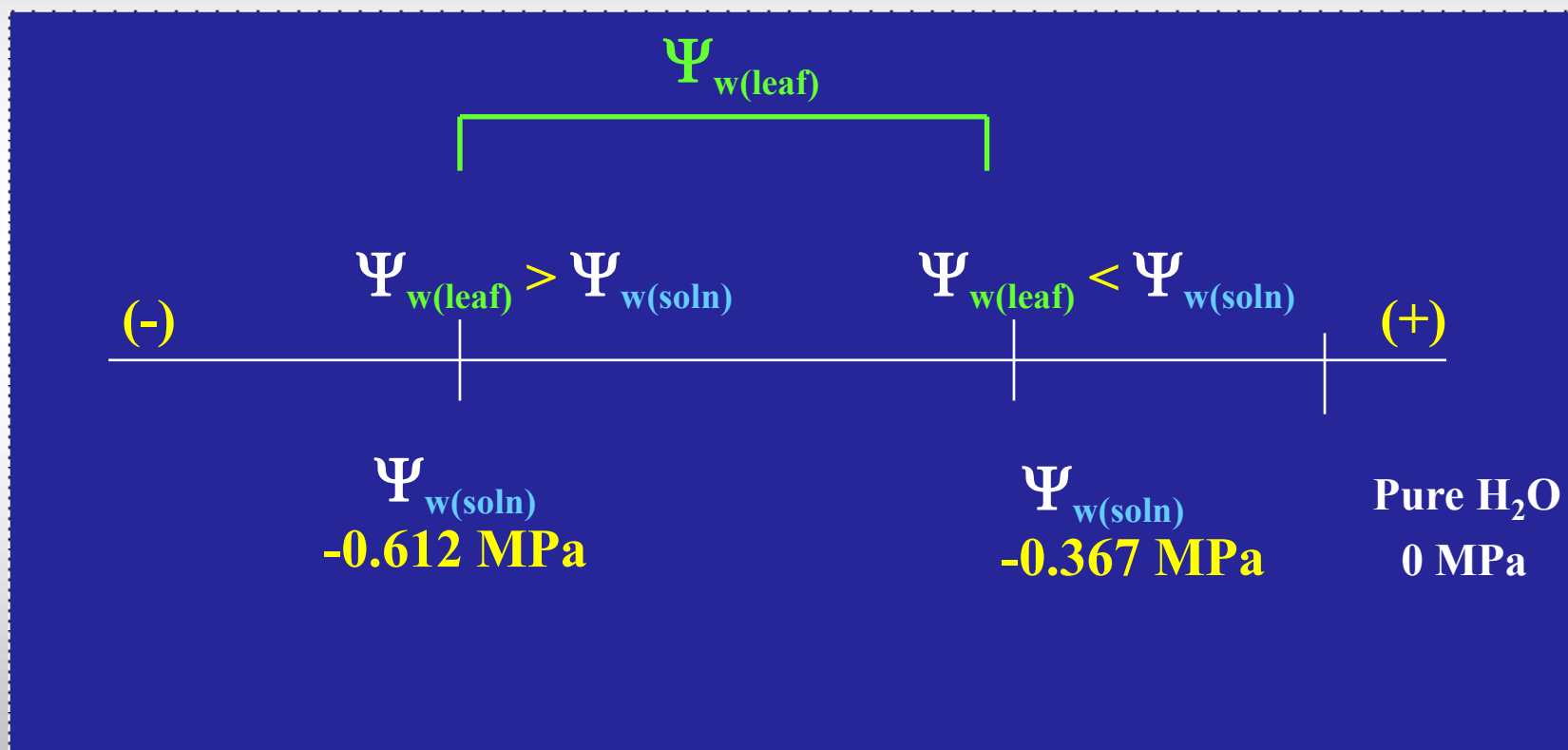
Αν ο φυλλικός δίσκος χάσει βάρος, το νερό μετακινήθηκε από τον φυλλικό δίσκο στο διάλυμα. Δηλαδή το Ψ του φυλλικού δίσκου ήταν πιο αρνητικό - 0.612 MPa.



$M_{(\text{soln})}$	Initial	Final	+/- Wgt
0.25	0.005 g	0.004 g	- 0.001 g

$$\Psi_{w(\text{leaf})} > \Psi_{w(\text{soln})}$$

Άρα το Ψ του φυλλικού δίσκου είναι μεταξύ -0.367 και -0.612 MPa.





$\Psi_{w(\text{soln})}$	Initial	Final	+/- Wgt
-0.489 MPa	0.005 g	0.005 g	0 g

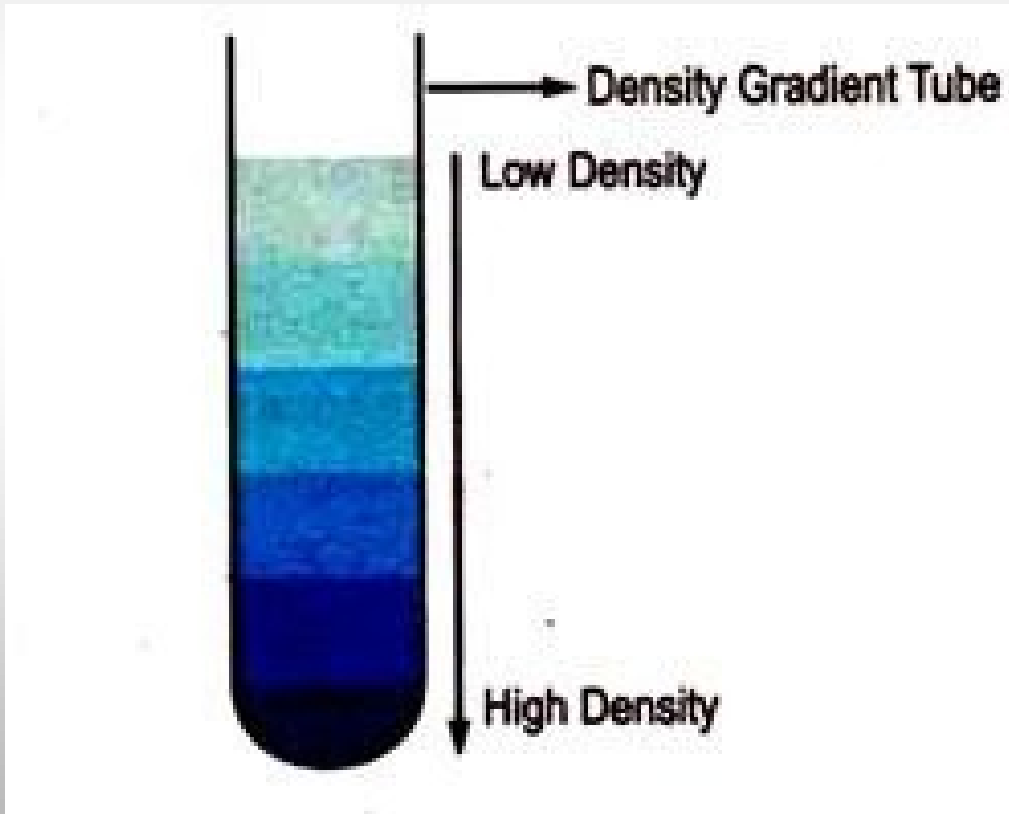
Water is in equilibrium

$$\Psi_{w(\text{leaf})} \approx \Psi_{w(\text{soln})}$$

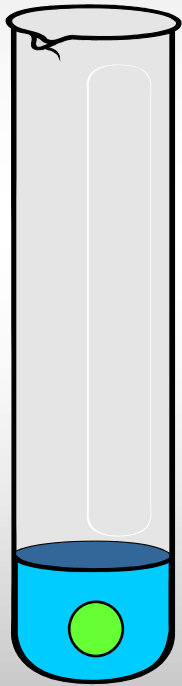
Όταν δεν βρούμε μηδενική διαφορά βάρους, βρίσκουμε τον μέσο όρο.

$\Psi_{w(\text{soln})}$	Initial	Final	+/- Wgt
-0.124 MPa	0.017 g	0.018 g	+0.001 g
-0.247 MPa	0.016 g	0.015 g	- 0.001 g
-0.370 MPa	0.017 g	0.015 g	- 0.002 g
-0.494 MPa	0.017 g	0.014 g	- 0.003 g
-0.618 MPa	0.017 g	0.013 g	- 0.004 g
-0.741 MPa	0.018 g	0.013 g	- 0.005 g

Επιβεβαίωση:



Constant Volume Method



- απλή μέθοδος
- δεν απαιτεί εξοπλισμό
- όχι ακριβής

Η ΠΟΡΕΙΑ ΤΟΥ ΝΕΡΟΥ ΜΕΣΑ ΣΤΟ ΦΥΤΟ

Μετακίνηση σε μεγάλη απόσταση

Το νερό κινείται ως υγρό μέσα στο έδαφος, εισέρχεται στη ρίζα όπου διασχίζει κυτταρικά τοιχώματα, μεμβράνες και κύτταρα, μεταφέρεται στα φύλλα μέσω των αγγείων, διαποτίζει τα κύτταρα του φύλλου και χάνεται ως αέριο (υδρατμοί) προς την ατμόσφαιρα μέσω των στομάτων.

Outside air Ψ
= -100.0 MPa

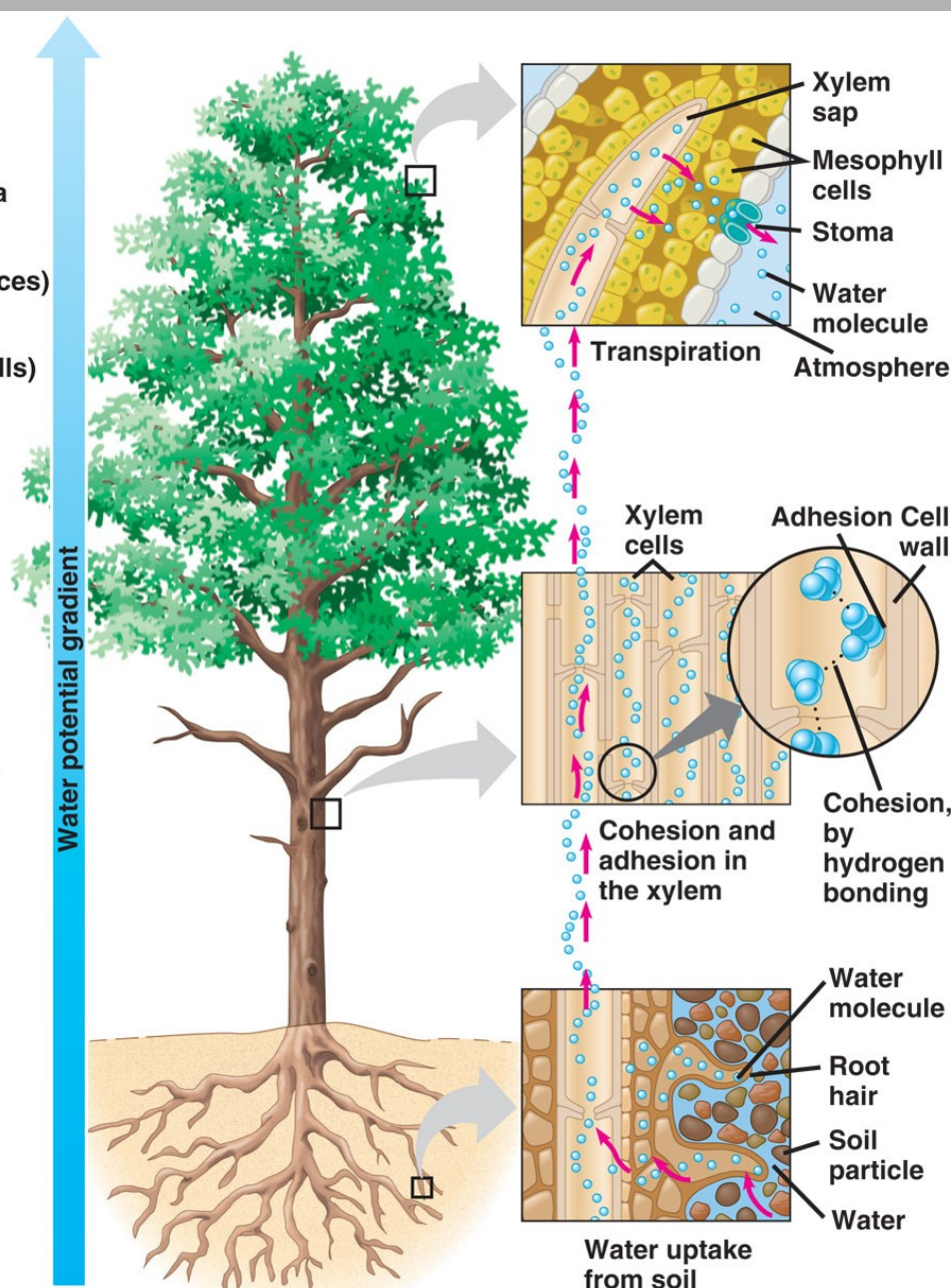
Leaf Ψ (air spaces)
= -7.0 MPa

Leaf Ψ (cell walls)
= -1.0 MPa

Trunk xylem Ψ
= -0.8 MPa

Root xylem Ψ
= -0.6 MPa

Soil Ψ
= -0.3 MPa

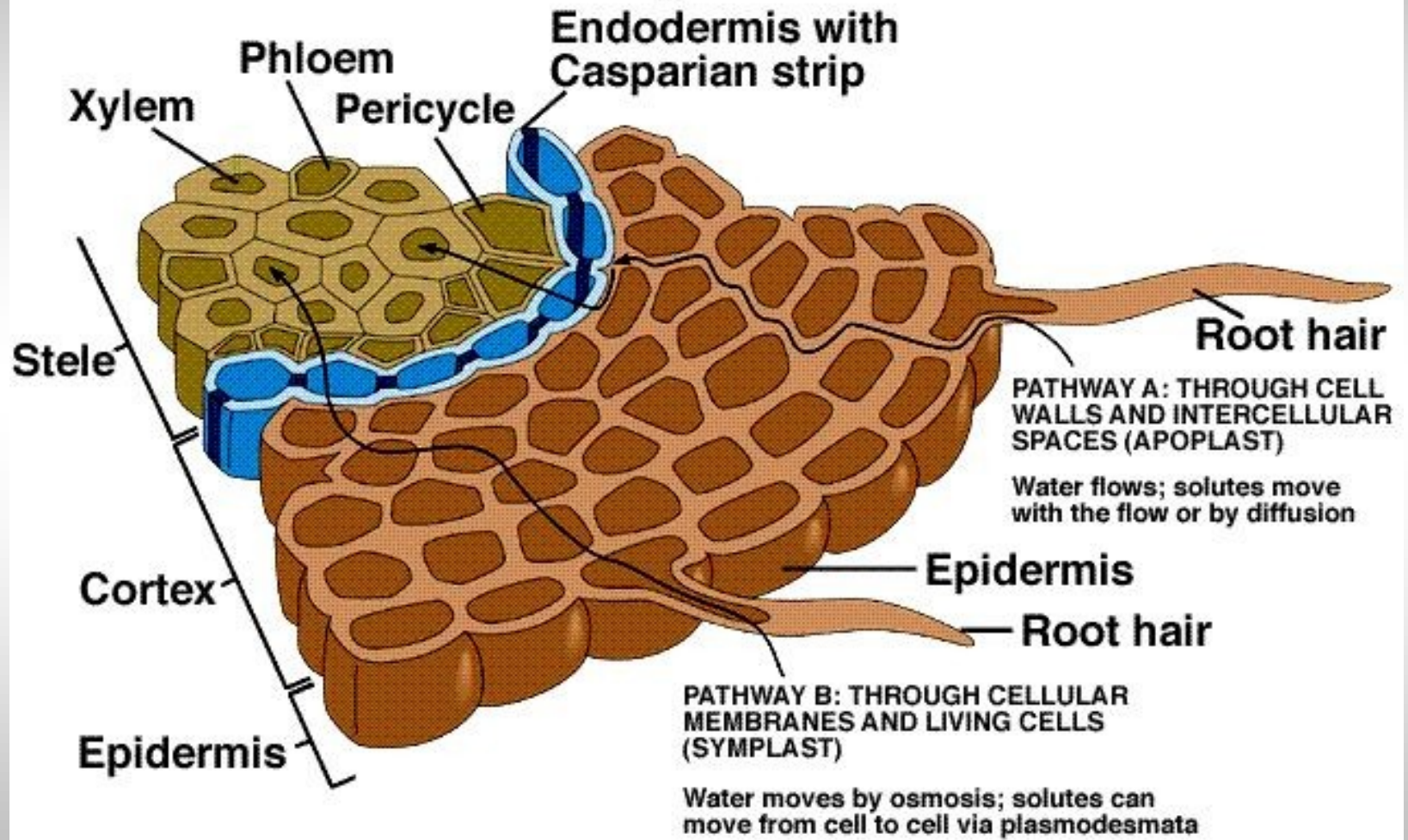


Η πρόσληψη του νερού από τη ρίζα

Η πρόσληψη του νερού από τη ρίζα

- Το νερό απορροφάται από το έδαφος μέσω **ώσμωσης**, κατά την διαβάθμιση του Ψ .
- Εισέρχεται στην ρίζα μόνο από την περιοχή του root tip, όπου υπάρχουν τα **ριζικά τριχίδια**. Ο μεγάλος αριθμός του αυξάνει την επιφάνεια ώσμωσης. Το Ψ των επιδερμικών κυττάρων είναι υψηλότερο από το Ψ των κεντρικών κυττάρων
- Ακολουθεί **συμπλαστική ή αποπλαστική οδό**.
- Το νερό μετακινείται στον φλοιό ανάλογα με την διαβάθμιση του Ψ **προς τα αγγεία του ξύλου**, όπου εισέρχεται ακολουθώντας **συμπλαστική οδό**.

Apoplastic Versus Symplastic Pathways in Roots



ΡΙΖΙΚΗ ΠΙΕΣΗ

Η ενδοδερμίδα μεταφέρει ενεργά άλατα στο ξήλωμα χαμηλώνοντας το Ψ του ξυλώματος και έτσι το νερό εισέρχεται με πίεση

The Cohesion Tension Hypothesis for Movement of Water up the Xylem Vessels

Transpiration

Lower pressure/tension
at top of xylem

Water evaporates from the
spongy mesophyll cells and
diffuses into the atmosphere

Lower Ψ in the leaf cells

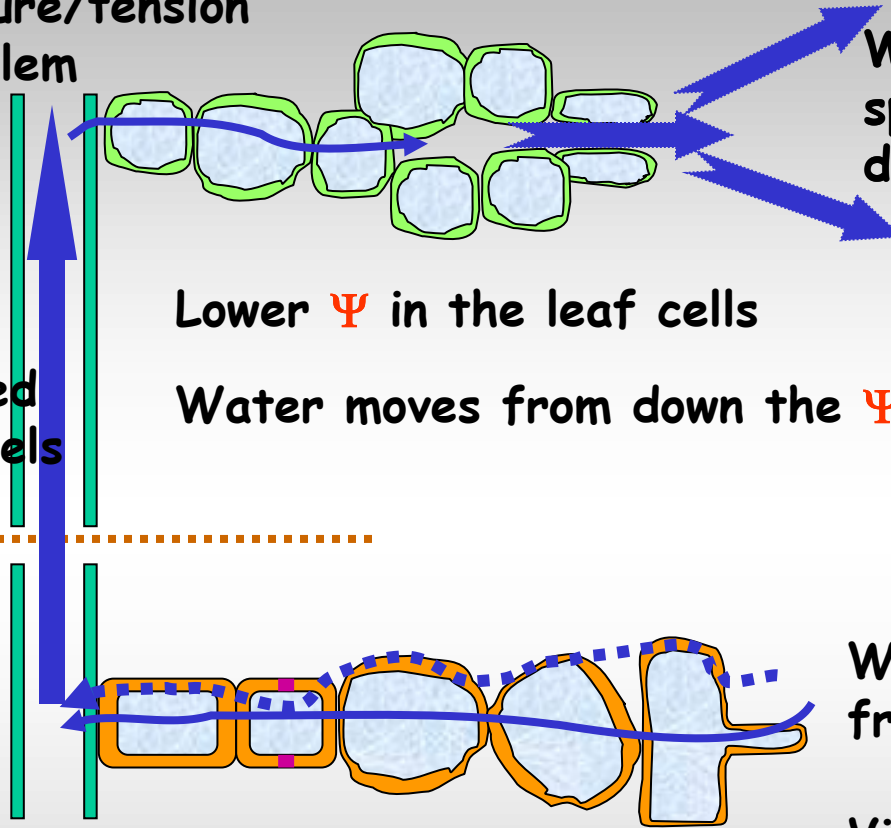
Water moves from down the Ψ gradient

Water is pulled
up xylem vessels

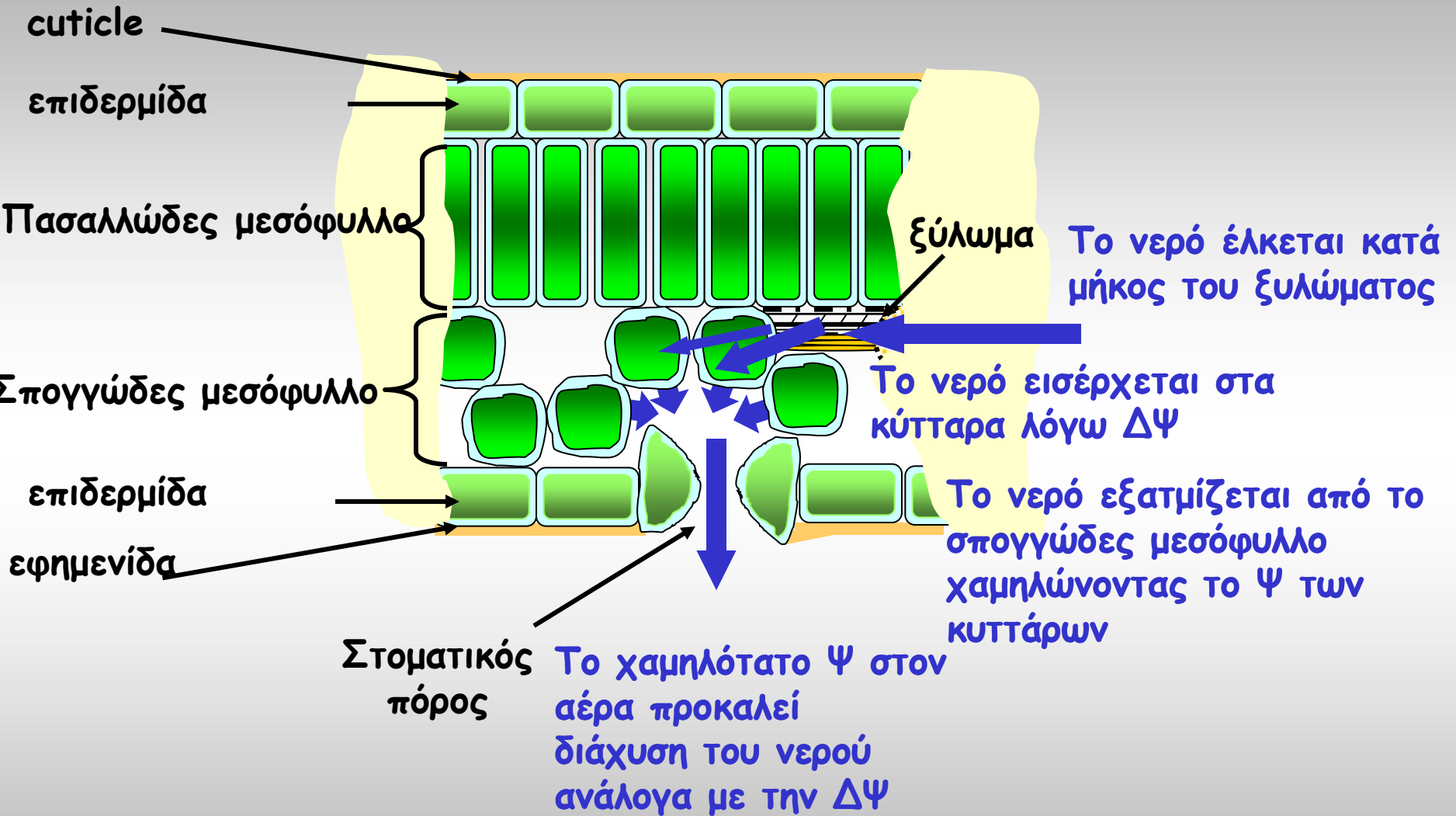
Water moves across root
from soil down Ψ gradient

Cohesive forces between water
molecules prevent water column
breaking

Via the apoplast and
symplast paths



Water movement across the leaf



*Το νερό αντλείται αναρροφητικά
προς τα φύλλα και η αιτία της
αρνητικής πίεσης στην κορυφή των
αγγείων είναι η διαπνοή.*

Είναι η διαπνοή αναγκαίο κακό???

◆ Μεταφορά θρεπτικών στοιχείων

☀ Θερμορύθμιση

Παράγοντες που επιδρούν στην ταχύτητα διαπνοής

- Η ανατομία του φύλλου
- Γεωμετρία φύλλου
- Δομή επιφανειακού αναγλύφου
- Πάχος/σύσταση εφυμενίδας
- Αριθμός στομάτων
- Κατανομή στην άνω/κάτω επιφάνεια
- Μέγεθος στοματικού πόρου

.

Περιβαλλοντικοί παράγοντες

- ΣΥ
- Θερμοκρασία φύλλου και αέρα
- Ταχύτητα ανέμου

Πειραματική προσέγγιση ρυθμού διαπνοής (ποτόμετρο)



Τέλος Ενότητας



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Κρήτης**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «**Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση**» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Σημειώματα

Σημείωμα αδειοδότησης

- Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση, Όχι Παράγωγο Έργο 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

- Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:
 - που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
 - που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
 - που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο
- Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Πανεπιστήμιο Κρήτης, Αναστασία Παπαδάκη 2015. «Ειδικές μέθοδοι ανάλυσης κυτταρικών διεργασιών. Προσδιορισμός ωσμωτικών τιμών φυτικών κυττάρων». Έκδοση: 1.0. Ηράκλειο 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:

<https://opencourses.uoc.gr/courses/course/view.php?id=366>

Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.