

Министерство образования Республики Беларусь

Учреждение образования
«Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»

МОДУЛЬ «ФИЗИОЛОГИЯ»

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

**Лабораторный практикум для специальности
6-05-0511-01 Биология
(Профилизации: Ботаника и физиология растений;
Зоология, физиология и генетика;
Биохимия и современные методы анализа)**

Гомель 2024

ТРЕБОВАНИЯ

к выполнению лабораторного практикума по дисциплине «Физиология растений»

Лабораторный практикум по дисциплине «Физиология растений» включает 52 часа аудиторных занятий, и проводится в соответствии с учебной программой. Студенты, не выполнившие лабораторный практикум в полном объеме, до экзамена не допускаются. Лабораторное занятие состоит из теоретической и практической частей. Теоретическая часть представляет собой письменное и тестовое рассмотрение вопросов учебного материала, перечень которых выдается лектором по дисциплине. Практическая часть включает выполнение лабораторных работ, оформление отчета по ним, формулировку выводов.

К каждому лабораторному занятию студенты обязаны готовиться в соответствии с «Перечнем вопросов для подготовки к лабораторным занятиям». Если студент составил краткий конспект ответов на все предложенные вопросы и представил этот конспект преподавателю до начала лабораторного занятия, к оценке, полученной им за тест или контрольную работу, добавляется один балл.

В начале каждого лабораторного занятия студенты выполняют тест, или письменную контрольную работу по материалу, приведенному в файле «Учебная программа». Оценки, полученные студентами за ответы на теоретической части лабораторного занятия, включаются в рейтинговую систему оценки знаний по дисциплине.

Пропущенные лабораторные занятия подлежат обязательной отработке во внеучебное время. Занятия, пропущенные по уважительной причине, отрабатываются на безвозмездной основе. Занятия, пропущенные без уважительной причины, отрабатываются на платной основе, по направлению, выдаваемому деканатом. Дни отработки пропущенных лабораторных занятий устанавливаются кафедрой в соответствии с расписанием учебных занятий и графиком занятости специализированных лабораторий.

ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ПРАКТИКУМА

- 1 К выполнению практикума допускаются студенты, прошедшие инструктаж по безопасности работы в лабораториях.
- 2 Выполнять практикум следует в белом халате из хлопчатобумажной ткани, застегнутом на все пуговицы.
- 3 Категорически запрещается держать в лаборатории пищевые продукты, принимать пищу, пить воду из химической посуды.
- 4 Каждый студент должен выполнять лабораторные работы на закрепленном за ним учебном месте, соблюдать порядок проведения лабораторных работ, поддерживать порядок на своем рабочем месте.
- 5 Перед началом работы студенты обязаны изучить содержание и порядок проведения лабораторной работы, подготовить к работе рабочее место, убрать посторонние предметы.
- 6 Все сосуды, содержащие реактивы и продукты их взаимодействия, должны быть подписаны.
- 7 Запрещается пользоваться химической посудой, имеющей трещины, сколы и иные повреждения.
- 8 Для взятия навесок следует пользоваться бумажными подложками; запрещается насыпать любые субстанции непосредственно на чашу весов.
- 9 Для отмеривания любых жидкостей следует пользоваться мерной посудой.
- 10 С летучими и ядовитыми веществами следует работать только под тягой.
- 11 Необходимо обращать особое внимание на соблюдение требований безопасности при работе с электрическими и нагревательными приборами.
- 12 Для нагревания горючих и летучих реактивов следует пользоваться водяными банями; запрещается нагревать их на открытом огне или вблизи пламени.
- 13 После окончания работы привести в порядок рабочее место (убрать со стола реактивы и оборудование, удалить мусор, стол протереть).

ТРЕБОВАНИЯ

К ВЕДЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОГО ДНЕВНИКА И ОФОРМЛЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

Для выполнения практикума по физиологии растений с основами микробиологии следует завести отдельную общую тетрадь (48-96 л), в которой выполняется работа по подготовке к лабораторному занятию, а также оформляется лабораторная работа.

Практикум включает в себя опыты, иллюстрирующие теоретические положения лекционного курса, а также экспериментальные работы, связанные с количественным определением физиологических показателей растений.

Перед началом выполнения лабораторной работы студент обязан уяснить цели и задачи выполняемого эксперимента, порядок выполнения работы, явления, эффекты или количественные показатели, на которых базируется анализ и подводятся итоги полученных результатов.

Лабораторное занятие оформляется по схеме:

- 1 Номер по порядку название работы, дата.
- 2 Цель работы.
- 3 Ход работы.
- 4 Результаты работы (таблицы, графики, рисунки).
- 5 Выводы.

Требования к таблицам, графикам и рисункам. Все таблицы, графики и рисунки должны быть подписаны. Обязательно должны быть обозначены объекты исследования, варианты опыта, единицы измерения, название осей координат – на графиках. Сформулированные выводы должны соответствовать цели лабораторной работы и полученным экспериментальным результатам. После оформления лабораторной работы студент обязан ответить на вопросы преподавателя по теме, получить его подпись в лабораторном дневнике.

ЗАНЯТИЕ 1

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПРОТОПЛАСТА РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Лабораторная работа 1.1 Свойства клеточных мембран

Цель работы: изучить функциональные особенности мембран живых клеток.

Материалы и оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла – 4 шт., мерный цилиндр на 10 мл, воронка, стеклянная палочка, препаровальная игла, скальпель, пинцет, пробирки – 3 шт., штатив для пробирок, держатель для пробирок, сосуд для промывания срезов, фильтровальная бумага, спиртовка, 30 % раствор уксусной кислоты, 1М раствор сахарозы, 1М раствор нитрата калия, 0,7 М раствор нитрата кальция, 1М раствор карбамида (мочевины).

Растения: корнеплоды столовой свеклы, луковицы лука репчатого (синеватые или красноватые сорта).

1.1.1 Сравнение проницаемости мембран живых и мертвых клеток. В вакуолях клеток корнеплода столовой свеклы содержится бетацианины – пигменты, придающие ткани корнеплода окраску. Тонoplastы живых клеток не проницаемы для молекул этих пигментов. После гибели клеток тонoplast теряет свойство полупроницаемости, становится проницаемым, молекулы пигментов выходят из клеток и окрашивают воду.

Ход работы:

Корнеплод свеклы после удаления покровных тканей разрезать на кубики (сторона кубика 5 мм) и тщательно промыть водой, чтобы удалить пигмент, вышедший из поврежденных клеток. Затем по одному кусочку опустить в три пробирки. В первую и вторую налить по 5 мл воды, в третью – 5 мл 30 % раствора уксусной кислоты. Первую пробирку оставить для контроля. Содержимое второй прокипятить 2-3 мин на пламени спиртовки.

Во второй и третьей пробирках, где клетки были убиты кипячением или кислотой, вода окрашивается, а в первой пробирке остается неокрашенной.

Задание: зарисовать схему опыта и его результаты, выявить различия в проницаемости мембран живых и мертвых клеток и сделать вывод о причинах этих различий.

1.1.2 Сравнение проницаемости клеточных мембран для различных веществ. Стойкий и временный плазмолиз.

Избирательная проницаемость мембран обеспечивает прохождение через них молекул воды, препятствует проникновению растворенных в воде веществ и обуславливает явление *плазмолиза* при действии на клетку гипертонического раствора. Если же молекулы растворенного вещества через мембрану проходят, но медленнее, чем молекулы воды, то начавшийся плазмолиз потом исчезает. *Деплазмолиз* происходит в результате постепенного проникновения растворенного вещества в клетку, изменения водного потенциала снаружи и внутри, а также поступления воды в клетку из наружного раствора по градиенту водного потенциала.

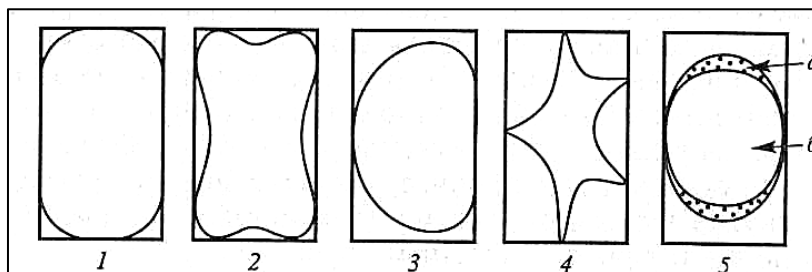
Ход работы:

На два предметных стекла нанести по капле раствора: на одно – 1М раствор сахарозы, на другое – 1М раствор карбамида (мочевины). В каждую каплю поместить по кусочку эпидермы лука, снятой с выпуклой поверхности одной и той же чешуи луковицы, накрыть покровным стеклом, рассмотреть под микроскопом сначала при малом, потом при большом увеличении. Найти участки эпидермиса, в которых хорошо видны плазмоллизированные клетки. Отметить время начала плазмолиза (начало наблюдения), зарисовать плазмоллизированные клетки и оставить препараты на 30-60 мин, затем вновь их рассмотреть и зарисовать. В растворе сахарозы плазмолиз в клетках сохранился, а в растворе карбамида произошел деплазмолиз. В растворе сахарозы наблюдается стойкий плазмолиз, а в растворе карбамида – временный. Причиной деплазмолиза в растворе карбамида является проницаемость клеточных мембран для его молекул. Так как проницаемость для карбамида меньше, чем для воды, то вода из клетки выходит быстрее, чем в нее входит карбамид. Это и вызывает плазмолиз, который потом исчезает при проникновении в клетку карбамида и поступлении воды.

Задание: зарисовать схему опыта, плазмоллизированные и деплазмоллизированные клетки и сформулировать выводы.

1.1.3 Влияние ионов калия и кальция на форму плазмолиза

В ходе плазмолиза форма плазмолизированного протопласта меняется. Вначале протопласт отстает от клеточной стенки лишь в отдельных местах, чаще всего в уголках. Плазмолиз такой формы называют *угловым*. Затем протопласт продолжает отставать от клеточных стенок, сохраняя связь с ними в отдельных местах, поверхность протопласта между этими точками имеет вогнутую форму. На этом этапе плазмолиз называется *вогнутым*. Постепенно протопласт отрывается от клеточных стенок по всей поверхности и принимает округлую форму. Такой плазмолиз носит название *выпуклого*. Если у протопласта связь с клеточной стенкой в отдельных местах сохраняется, то при дальнейшем уменьшении объема в ходе плазмолиза протопласт приобретает неправильную форму. Такой плазмолиз носит название *судорожного* (рисунок). Время, в течение которого вогнутый плазмолиз переходит в выпуклый, позволяет оценивать степень вязкости цитоплазмы.



Формы плазмолиза: 1 – угловый; 2 – вогнутый; 3 – выпуклый; 4 – судорожный; 5 – колпачковый (а – цитоплазма; б – вакуоль)

При сравнении вязкости цитоплазмы в растворах солей калия и кальция можно отметить, что ионы калия, проникая в цитоплазму, повышают ее гидрофильность, уменьшают вязкость и способствуют ее быстрому отрыву от клеточной стенки. Поэтому в растворах солей калия плазмолиз быстро принимает форму выпуклого. Ионы кальция, наоборот, повышают вязкость цитоплазмы, увеличивают силы сцепления ее с клеточной стенкой, и плазмолиз принимает форму судорожного плазмолиза.

Ход работы:

На одно предметное стекло нанести каплю 1М раствора нитрата калия, на другое – 0,7 М раствора нитрата кальция. В обе капли поместить по кусочку эпидермы лука, снятой с выпуклой поверхности одной и той же чешуи луковичы, накрыть покровными стеклами. Через 5-10 мин препараты рассмотреть под микроскопом.

Задание: зарисовать схему опыта, плазмолизированные и деплазмолизированные клетки и сформулировать выводы.

Лабораторная работа 1.2 Прижизненное окрашивание клеток нейтральным красным

Цитоплазма не является идеальной полупроницаемой преградой на пути веществ, поступающих в клетку: она пропускает не только воду, но и некоторые растворенные в ней вещества. К числу таких веществ относится краситель нейтральный красный, которая свободно проникает в вакуоли живых клеток и окрашивает клеточный сок. Отмирание цитоплазмы при этом не происходит, в чем можно легко убедиться, вызвав плазмолиз окрашенных клеток (плазмолиз может быть только у живых клеток). Нейтральный красный – двухцветный индикатор: в кислой среде ($\text{pH} < 6$) он приобретает малиновую окраску, в щелочной – желтую.

Для понимания результатов данной работы необходимо иметь в виду, что в нейтральной реакции среды нейтральный красный не диссоциирует на ионы, поэтому хорошо растворяется в липидах мембран клетки, тогда как в кислой среде это вещество диссоциирует на ионы, поэтому плохо растворяется в липидах. Цитоплазма живой клетки имеет слабое сродство к красителю, поэтому окрашивание цитоплазмы и ядра нейтральным красным – признак повреждения клетки. Вакуоли отмерших клеток не окрашиваются, а окрашивается в желто-розовый цвет цитоплазма и ядра.

Цель работы: на примере нейтрального красного убедиться в том, что цитоплазма живой клетки не является идеальной полупроницаемой преградой на пути поступления веществ.

Материалы и оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла – 3 шт., лезвие, препаровальная игла, стеклянная палочка, склянка с водой, кусочки фильтровальной бумаги, 0,02 % водный раствор нейтрального красного, 1М раствор нитрата калия.

Растения: луковицы лука репчатого (неокрашенные сорта).

Ход работы:

Приготовить 3 среза верхнего эпидермиса чешуи лука, поместить их на предметное стекло в большую каплю нейтрального красного.

1 срез: оставить для контроля.

2 срез: через 10 минут оттянуть краску фильтровальной бумагой, перенести в каплю воды, закрыть покровным стеклом, препарат рассмотреть под микроскопом.

3 срез: через 10 минут оттянуть краску фильтровальной бумагой, перенести в каплю воды, через 5 минут заменить воду на раствор KNO_3 , закрыть покровным стеклом, препарат рассмотреть под микроскопом.

Задание: зарисовать по одной клетке каждого среза, какая часть окрашена красителем – оболочка, цитоплазма или вакуоль и в какой цвет. Сделать вывод о проницаемости цитоплазмы для нейтрального красного и о реакции (pH) содержимого клеток.

ЗАНЯТИЕ 2 ПОГЛОЩЕНИЕ ВОДЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКОЙ

Лабораторная работа 2.1 Определение степени набухания семян

При соприкосновении с влагой сухие семена быстро поглощают воду, и увеличиваются в размерах благодаря набуханию белков, пектинов и других гидрофильных веществ. В основе набухания лежит гидратация коллоидов – взаимодействие веществ с водой, приводящее к уменьшению ее подвижности.

Цель работы: определение степени набухания семян зерновых культур.

Материалы и оборудование: весы технические, чашки Петри, стакан с водой, фильтровальная бумага.

Растения: сухие семена зерновых злаков¹.

Ход работы:

Навески 2-3 г семян разных видов растений поместить в чашки Петри, залить водой, обращая внимание на полное смачивание семян. Чашки Петри закрыть крышками, оставить на 3 часа. Через три часа семена вынуть из чашки Петри, быстро обсушить фильтровальной бумагой, и взвесить. Результаты записать в таблицу.

Степень набухания семян сельскохозяйственных культур

Вид растения	Масса семян, г		Увеличение массы семян	
	исходная	после набухания	г	% от исходной

Задание: описать ход работы. Сделать вывод о содержании гидрофильных коллоидов в семенах.

Лабораторная работа 2.2 Определение водного потенциала растительной ткани методом полосок по Лилиенштерн

Водный потенциал характеризует сосущую силу растительной ткани. Его величина зависит от разности химических потенциалов воды в клетке и чистой воды. Водный потенциал всегда имеет отрицательный знак. Чем ниже водный потенциал, тем сильнее обезвожена растительная клетка, поэтому этот показатель используют для выбора правильного времени полива. Для конкретных культур различных почвенно-климатических зон установлены оптимальные значения водного потенциала. Это позволяет по справочным данным проводить поливы в оптимальные сроки. Метод полосок основан на подборе наружного раствора такой концентрации, при погружении в который длина полоски растительной ткани не меняется. Если водный потенциал наружного раствора выше водного потенциала растительной ткани, то клетки, всасывая воду из раствора, увеличиваются в объеме, и длина полосок возрастает, если же он ниже, то раствор отнимает воду от клеток, в результате чего их объем и длина полоски уменьша-

¹ Можно использовать семена других культур – подсолнечника, рапса, редиса и др.

ется. В растворе, у которого водный потенциал равен водному потенциалу растительной ткани, длина полосок не изменяется.

Цель работы: определение водного потенциала растительной ткани методом полосок.

Материалы и оборудование: штатив с одиннадцатью пробирками, мерный цилиндр на 10 мл, воронка, пинцет, скальпель, линейка, 1 М раствор сахарозы.

Растения: крупные клубни картофеля.

Ход работы:

При помощи разбавления 1 М раствора сахарозы в пробирках приготовить по 10 мл растворов 1,0; 0,9; 0,8; 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 и 0 М концентрации. Из клубня картофеля вырезать 22 полоски длиной 4-6 см и сечением около 4 мм². Концы полосок срезать наискось. **Работать следует быстро, чтобы исключить подсыхание полосок.** Линейкой точно измерить их длину, поместить по две полоски в каждую пробирку с приготовленным раствором. Через 20 мин полоски вынуть, обсушить фильтровальной бумагой, снова измерить их длину. Для расчета величины водного потенциала определить концентрацию, при которой длина полосок не изменяется. Величину водного потенциала рассчитать по формуле: $\Psi_{\text{ткани}} = \Psi_{\text{раствора}} = -RTci$, где R – газовая постоянная, равная 8,3 Дж/моль · К; T – абсолютная температура в градусах Кельвина (273° + комнатная); c – изотоническая концентрация, М; i – изотонический коэффициент (для сахарозы равен 1).

Результаты записать в таблицу.

Определение водного потенциала методом Лилиенштерн

Концентрация раствора, моль/л	На 10 мл раствора		Длина полоски ткани, мм		Концентрация, при которой длина полосок не изменялась, М	Водный потенциал, кПа
	1 М раствора сахарозы, мл	воды, мл	перед погружением в раствор	после пребывания в растворе		
1,0	10	0				
0,9	9	1				
0,8	8	2				
0,7	7	3				
0,6	6	4				
0,5	5	5				
0,4	4	6				
0,3	3	7				
0,2	2	8				
0,1	1	9				
0	0	10				

Задание: описать ход работы. Рассчитать величину водного потенциала ткани.

Лабораторная работа 2.3 Зависимость сосущей силы от степени насыщения клеток водой

Силу, с которой клетка способна поглощать воду, называют сосущей силой (S) клетки. Сосущая сила растительной клетки равна разности между осмотическим давлением (P) клеточного сока и тургорным давлением (T). При погружении клетки в какой-либо раствор водообмен между ними определяется соотношением их сосущих сил: вода передвигается в ту сторону, где больше сосущая сила.

Данная работа – продолжение предыдущей. На основе данных, полученных в работе 2.1, нужно начертить диаграмму, показывающую, как изменяется сосущая сила клеток, осмотическое давление клеточного сока и тургорное давление при изменении степени насыщения клеток водой. Зависимость между указанными показателями выражается следующей формулой: $S=P-T$. Если до погружения все клетки имели более или менее одинаковую степень насыщения водой, а, следовательно, и одинаковые S , P и T , то после пребывания клеток в растворах все эти показатели для разных полосок стали различными.

Материалы и оборудование: миллиметровая бумага, линейка.

Ход работы:

Заполнить таблицу, в которой записать показатели, характеризующие состояние клеток после пребывания в растворах (см. таблицу в работе 2.2).

Состояние клеток после пребывания в растворах

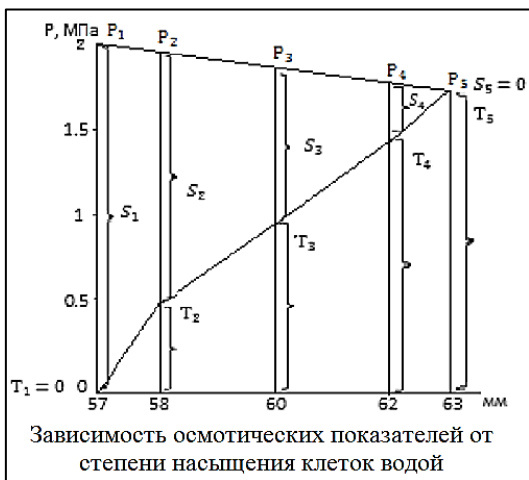
Длина полоски V , мм				
Сосущая сила S , кПа				
Осмотическое давление P , кПа				
Тургорное давление T , кПа				

Длина полосок (V). В первую строку таблицы записать длину полосок после пребывания клеток в растворах, начиная с наименьшей концентрации. При совпадении длины полосок в нескольких самых крепких растворах (например, 0,6 М; 0,8 М; 1,0 М) взять величину, относящуюся только к наиболее слабому из этих растворов (например – 0,6 М, поскольку уже в этом растворе клеточные оболочки достигли предела сокращения).

Сосущая сила (S). Исходя из того, что полоски достаточно долго пролежали в растворах и уже перестали изменяться в длине, считается, что сосущая сила клеток сравнялась с осмотическим давлением соответствующего раствора.

Осмотическое давление раствора, а, следовательно, и равная ему сосущая сила клеток вычисляется по уравнению Вант-Гоффа. Потенциальное осмотическое давление: $P = RTci$, где R – газовая постоянная, равная 8,3 Дж/моль·К; T – абсолютная температура по Кельвину ($273^\circ + \text{комнатная}$); c – изотоническая концентрация, М.; i – изотонический коэффициент Вант-Гоффа (для сахарозы равен единице).

Осмотическое давление клеточного сока (P). Для самой короткой полоски (V_1) характерно полное отсутствие тургора: $T_1 = 0$, откуда (по формуле $S = P - T$) $P_1 = S_1$. Остальные полоски имеют все более разбавленный клеточный сок, причем P уменьшается обратно пропорционально объему клеток (или длине полосок): $P_1 V_1 = P_n V_n$, откуда $P_n = P_1 V_1 / V_n$.



Тургорное давление (T) находят по формуле: $S = P - T$, откуда $T = P - S$.

Заполнив таблицу, начертить диаграмму (образец – на рисунке). Для этого на миллиметровой бумаге начертить систему координат: ось абсцисс (X) – миллиметры, ось ординат (Y) – кПа. На оси абсцисс отложить длину полосок (V), например, 1 мм=1 см, причем точку пересечения осей обозначить не нулем (0), а – V_1 . На оси ординат отложить значения для P и T , соединить линиями полученные точки. Получатся графики зависимости P и T от степени насыщения клеток водой. Значения для S откладывать не придется, т.к. эти величины представлены отрезками $P - T$.

Задание: описать ход работы, сделать вывод о том, как изменяются P , T и S в зависимости от насыщения клеток водой.

ЗАНЯТИЕ 3 ТРАНСПИРАЦИЯ

Лабораторная работа 3.1 Наблюдение за движением устьиц под микроскопом.

Транспирация, как и испарение, – диффузионный процесс, а потому определяется градиентом водного потенциала в системе «растение-воздух». Транспирация как физический процесс зависит от дефицита насыщения воздуха водяными парами, температуры, освещенности, ветра (движения воздуха), а также величины и формы испаряющей поверхности, определяемой особенностями строения растения.

Цель работы: изучить строение устьиц и пронаблюдать за их движением.

Материалы и оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла – 2 шт., препаровальные иглы, лезвие, стакан с водой, фильтровальная бумага, 5%-й раствор глицерина в капельнице.

Растения: листья традесканции виргинской и пеларгонии зональной.

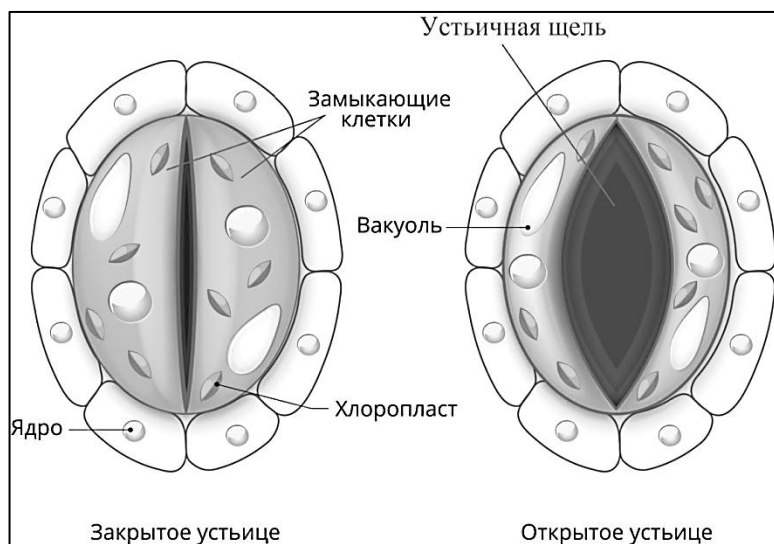
Газообмен между межклетниками листа и атмосферой регулируется устьицами. Устьице состоит из двух специализированных клеток эпидермиса, называемых замыкающими, между которыми находится устьичная щель (рисунок).

Устьица регулируют газо- и водообмен в растении благодаря тому, что обладают способностью периодически открываться и закрываться.

Цель работы: изучить строение устьиц и пронаблюдать за их движением.

Ход работы:

Изучение строения устьиц. С нижней стороны листа традесканции виргинской снять эпидермис, поместить его на предметное стекло в каплю воды и накрыть покровным стеклом. При малом и большом увеличении микроскопа рассмотреть строение устьиц. Замыкающие клетки устьица имеют бобовидную форму, и содержат цитоплазму, ядро с ядрышком, хлоропласты, небольшие вакуоли. Оболочки замыкающих клеток утолщены неравномерно: оболочка внутренней стороны, обращенная к щели, толще, чем противоположная.



ще, чем противоположная.

Наблюдение за открыванием и закрыванием устьиц. Приготовить срез эпидермиса с нижней стороны листа традесканции виргинской, поместить его в каплю 5 % раствора глицерина на предметное стекло, накрыть покровным стеклом и сразу начать наблюдения плазмолиза под микроскопом, как в замыкающих клетках, так и в остальных клетках эпидермиса. Устьичные щели при этом закрываются. Заменить глицерин водой, для этого нанести рядом с покровным стеклом каплю воды, а с другой стороны покровного стекла оттянуть глицерин фильтровальной бумагой. При этом устьица открываются.

Задание: зарисовать схему опыта и его результаты: открытое и закрытое устьице, объяснить причины устьичных движений.

Лабораторная работа 3.2 Определение интенсивности транспирации весовым методом

Интенсивность транспирации – количество воды, испарившейся с единицы листовой поверхности в единицу времени. Метод основан на учете изменений массы срезанного транспирирующего листа за короткие промежутки времени, что дает возможность наблюдать транспирацию при том состоянии насыщения листа водой, в каком он находился на растении. Интервал между взвешиваниями не должен превышать 5 мин. При более длительной экспозиции уменьшается содержание воды в листе и снижается интенсивность транспирации.

Цель работы: определить среднюю интенсивность транспирации листьев трех видов растений.

Материалы и оборудование: технические весы, ножницы, тетрадная бумага, пинцет, предметные стекла, покровные стекла, склянка с водой, пипетка, микроскоп.

Растения: листья пеларгонии, гибискуса и традесканции.

Ход работы:

Наблюдения ведутся за листьями с одного стебля растения. Каждый студент получает лист определенного яруса. Срезать лист, взятого пинцетом, положить на чашку весов, взвесить. Через 5 мин после взвешивания первого листа повторно взвесить все листья в первоначальном порядке.

Убыль в массе листьев за время между первым и вторым взвешиваниями показывает, сколько воды испарилось за этот период. Все расчеты выполнить по суммарной массе и площади всех листьев.

Определение площади листа. Лист растения наложить на тетрадную бумагу, обвести контур остро отточенным карандашом, получить отпечаток листа. Вырезать бумагу по контуру листовой пластинки и взвесить. Одновременно из такой же бумаги вырезать квадрат площадью 100 см^2 ($10 \times 10 \text{ см}$), и взвесить. Площадь исследуемого листа рассчитать по формуле: $S = a \cdot c / b$,

где a – масса контура листа, г; b – масса квадрата бумаги, г; c – площадь квадрата бумаги, см².

Рассчитать количество воды, испарившейся из 1 г сырых листьев за 1 час. Интенсивность транспирации [г/(м²·ч)] рассчитать по формуле:

$$T = \frac{10000 \cdot c}{S \cdot t},$$

где C – убыль в массе за время опыта, г; S – площадь листа, см², t – продолжительность опыта, ч.

Определить количество устьиц на нижнем эпидермисе. Приготовить водный препарат нижнего эпидермиса каждого вида растений. Посчитать количество устьиц в поле зрения на малом увеличении. Вычислить среднее значение по результатам, полученным каждой парой студентов для каждого вида растений.

Задание: описать схему опыта, вычислить среднее значение интенсивности транспирации листьев трех видов растений, связать полученный результат со средним количеством устьиц на нижнем эпидермисе.

Лабораторная работа 3.3 Определение интенсивности кутикулярной транспирации

Различают транспирацию устьичную и кутикулярную. Устьичная транспирация осуществляется через устьичные щели, кутикулярная – клетками эпидермиса. При открытых устьицах одновременно осуществляются обе формы транспирации, при закрытых – только кутикулярная. Если у листа, имеющего устьица только на нижней стороне, замазать эту сторону вазелином, можно определить интенсивность кутикулярной транспирации. С листьями, имеющими устьица на обеих сторонах (кукуруза, бобы, подсолнечник и др.), этот опыт провести нельзя.

Цель работы: провести определение интенсивности кутикулярной транспирации листьев разных растений и листьев одного растения, но разного возраста.

Материалы и оборудование: свежие листья традесканции, аналитические весы, пробирки (2шт.), штатив для пробирок, скальпель, водяная баня, вазелин.

Растения: традесканции виргинской.

Ход работы: срезать по возможности два одинаковых листа, имеющих устьица на нижней стороне, смазать нижнюю сторону одного из них тонким слоем вазелина, слегка разогретого на водяной бане. Взвесить листья на весах с точностью до сотых долей грамма, отметить время и поставить их черешками в пустые пробирки. Через 20-30 минут повторить взвешивание.

Результаты взвешивания записать в таблицу:

Расчет вклада кутикулярной транспирации листьев традесканции

Вариант опыта	Масса листа, г		Испарилось воды, г	Транспирация, % от общей	
	исходная	в конце опыта		кутикулярная	устьичная
без вазелина			а		
с вазелином			б		

Уменьшение массы не обработанного листа (а) характеризует общую транспирацию (устьичная + кутикулярная), обработанного вазелином (б) – кутикулярную транспирацию. Составив пропорцию, находим кутикулярную транспирацию листа, выраженную в процентах.

Задание: сопоставить интенсивность кутикулярной транспирации листьев разных растений, а также листьев разного возраста одного и того же растения.

ЗАНЯТИЕ 4 ПИГМЕНТЫ ФОТОСИНТЕЗА

Лабораторная работа 4.1 Определение содержания пигментов фотосинтеза в листьях

Пигментная система хлоропласта высших растений представлена двумя типами пигментов: хлорофиллами и каротиноидами. Основной функциональный пигмент хлорофилл a обнаружен у всех фотосинтезирующих организмов за исключением бактерий. У большинства наземных высших растений содержание хлорофилла a в 2,5 – 3,5 раза выше, чем содержание хлорофилла b . По химической природе

хлорофиллы – сложные эфиры дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов – метанола и фитола. Каротиноиды – это полиеновые углеводороды красного, желтого и оранжевого цветов. Каротиноиды содержат 40 атомов углерода и представляют собой цепи, обладающие сопряженными двойными связями. Каротиноиды присутствуют в хлоропластах всех растений.

Содержание пигментов фотосинтеза в листьях определяется генетически запрограммированной совокупностью признаков растения, но зависит от его жизнедеятельности в изменяющихся условиях внешней среды. Поэтому оно может быть использовано как физиологический показатель. Для определения содержания пигментов фотосинтеза в листьях производят экстрагирование растительного материала органическими растворителями, после чего определяют оптическую плотность растворов при пропускании через них света определенной длины волны.

В разные годы разными учеными для упомянутых растворителей были предложены формулы, связывающие концентрацию пигментов в растворах с их оптической плотностью при определенной длине волны пропускаемого света. Оптическую плотность растворов определяют при помощи спектрофотометра. Спектрофотометрический метод удобен тем, что позволяет определить в экстракте содержание хлорофиллов *a* и *b* без предварительного разделения пигментов химическими или хроматографическими методами. Кроме того данные, полученные в мг/л, могут быть пересчитаны в единицы массы или площади листа. Важным показателем также является соотношение концентраций хлорофилл *a* / хлорофилл *a*. У большинства растений это соотношение равно 3 : 1. Сильно отличающиеся значения соотношений концентраций пигментов могут свидетельствовать о наличии стресса у растения.

Цель работы: ознакомиться с методами экстракции пигментов фотосинтеза, определить содержание хлорофиллов *a* и *b*.

Материалы и оборудование: весы технические, ножницы, ступка с пестиком, пробирки, воронка, фильтр, мерный цилиндр на 10 мл, этанол – 25 мл на одну пару студентов, СаСО₃, песок.

Растения: зеленые листья пеларгонии зональной, туи западной, гибискуса китайского.

Ход работы:

Навеску листьев 0,5 г измельчить ножницами, перенести в фарфоровую ступку, прибавить на кончике шпателя СаСО₃ (для нейтрализации кислот клеточного сока), небольшое количество кварцевого песка (для лучшего растирания) и 1-2 мл спирта. Все это тщательно и быстро растереть в ступке, постепенно добавляя (после получения однородной массы) спирт несколькими порциями (в целом 10-15 мл). Гомогенат вместе с осадком отфильтровать в пробирку через складчатый фильтр. После окончания фильтрования пестик и стенки ступки обмыть спиртом (3-5 мл) и профильтровать.

В полистирольные кюветы для спектрофотометрии налить растворы пигментов фотосинтеза, полученные из листьев трех видов растений. Прогреть спектрофотометр, наполнить раствором кювету. Произвести измерение оптической плотности растворов пигментов при 649 нм и 665 нм.

Рассчитать концентрацию хлорофиллов *a* и *b* по формулам:

$$C_{\text{хл а}} = 13,7 \cdot D_{665} - 5,76 \cdot D_{649}; C_{\text{хл б}} = 25,8 \cdot D_{649} - 7,6 \cdot D_{665}; C_{\text{хл а} + \text{хл б}} = 6,1 \cdot D_{665} + 20,04 \cdot D_{649}$$

где *C хл а* и *C хл б* – соответственно концентрации хлорофиллов *a* и *b*, мг/л; *D* – определенные на спектрофотометре величины оптической плотности растворов при соответствующих длинах волн.

Для каждого случая вычислить отношение концентраций *хл а/хл б*. Результаты занести в таблицу.

Концентрация пигментов фотосинтеза в вытяжке из листьев

Объект	D ₆₄₉ , Бел	D ₆₆₅ , Бел	C _{хл а} , мг/л	C _{хл б} , мг/л	C _{хл а + хл б} , мг/л	C _{хл а} /C _{хл б}

Для каждого случая вычислить содержание пигментов фотосинтеза в мг/г сырых листьев. Результаты занести в таблицу.

Содержание пигментов фотосинтеза в листьях

Объект	Масса образца, г	Объем вытяжки, мл	M _{хл а} , мг/г	M _{хл б} , мг/г	M _{хл а + хл б} , мг/г

Задание: описать порядок извлечения этанолом пигментов фотосинтеза из растительного материала. По величинам соотношений $C_{\text{хл а}} / C_{\text{хл б}}$ (в мг/л и в мг/г сырой массы листа) сделать выводы о возможном наличии фитостресса у изучаемых видов растений.

Лабораторная работа 4.2 Химические свойства пигментов фотосинтеза.

Цель работы: ознакомиться с химическими свойствами пигментов фотосинтеза.

Материалы и оборудование: спиртовой раствор пигментов фотосинтеза; гексан; NaOH или KOH кристаллический; 10% соляная кислота в капельнице; уксуснокислая медь или цинк; спиртовка; штатив с пробирками; воронки; фильтровальная бумага; стеклянные палочки.

4.2.1 Разделение пигментов по Краусу. Метод основан на различной растворимости пигментов в спирте и гексане. Эти растворители при сливании не смешиваются, а образуют две фазы верхнюю гексановую и нижнюю спиртовую, благодаря чему и разделяются компоненты смеси пигментов.

Ход работы:

В пробирку налить 2-3 мл спиртового экстракта пигментов и добавить 3-4 мл гексана. Содержимое пробирки сильно встряхнуть, предварительно закрыв ее пробкой или большим пальцем, и оставить отстояться. Для лучшего разделения добавить 1-2 капли воды.

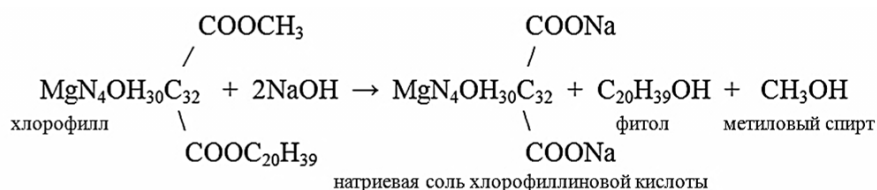
По мере расслоения эмульсии верхний гексановый слой будет окрашиваться в зеленый цвет, из-за лучшей растворимости в нем хлорофиллов. Кроме того, в гексан переходит каротин, но его окраска маскируется хлорофиллом. Ксантофилл остается в нижнем спиртовом слое, придавая ему золотисто-желтую окраску.

Если пигменты разделяются недостаточно четко, добавить 1-2 капли воды и снова встряхнуть. При избытке воды возможно помутнение нижнего слоя, тогда следует прилить немного этилового спирта и взболтать содержимое пробирки.

Задание: описать ход работы. Зарисовать распределение пигментов в спирте и гексане, сделать выводы о различной их растворимости.

4.2.2 Омыление хлорофилла щелочью. При обработке хлорофилла щелочью происходит омыление эфирных групп, т.е. отщепление остатков метилового спирта и фитола и образование соли хлорофиллиновой кислоты.

Образующаяся натриевая соль хлорофиллиновой кислоты сохраняет зеленую окраску и оптические свойства хлорофилла, но отличается большей гидрофильностью, по сравнению с неизмененным пигментом.

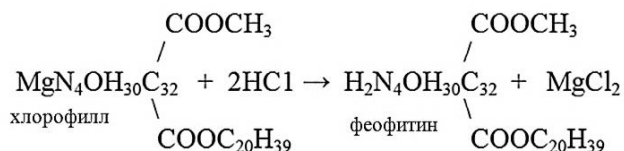


Ход работы:

В пробирку с 2-3 мл спиртового раствора пигментов поместить небольшой кристалл KOH или NaOH и взболтать. К раствору прилить равный объем гексана и несколько капель воды для лучшего разделения смеси. Затем содержимое пробирки резко встряхнуть и дать ему отстояться. В гексановый слой перейдут каротин и ксантофилл, а в спиртовой – натриевая соль хлорофиллиновой кислоты.

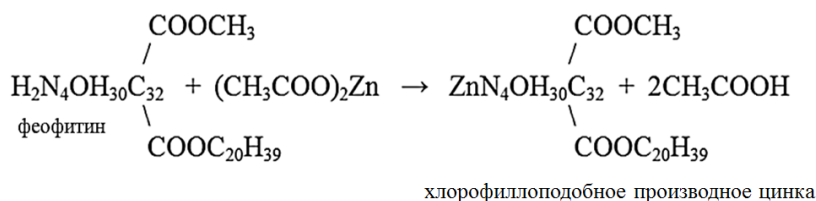
Задание: описать ход работы. Зарисовать окраску слоев, указав распределение пигментов, записать уравнение реакции омыления хлорофилла щелочью.

4.2.3 Получение феофитина и обратное замещение водорода атомом металла. Атом магния слабо удерживается в порфириновом ядре хлорофилла и при осторожном воздействии сильных кислот легко замещается двумя протонами, что приводит к образованию феофитина – вещества бурого цвета.



Если на феофитин подействовать солями меди, цинка или ртути, то вместо двух протонов в порфириновое ядро входит соответствующий ион металла и вновь восстанавливается зеленая окраска. Од-

нако она несколько отличается от окраски хлорофилла. Следовательно, цвет хлорофиллов зависит от металлоорганической связи в их молекуле. Обратное введение магния в феофитин происходит с большим трудом.



Ход работы:

В пробирку налить 2-3 мл спиртового раствора пигментов и прибавить 1-2 капли 10%-го раствора соляной кислоты. В ходе реакции зеленый цвет меняется на бурый, при этом хлорофилл превращается в феофитин. Содержимое пробирки разлить в две пробирки.

Одну пробирку с феофитином оставить для контроля, а во вторую поместить несколько кристаллов уксуснокислого цинка и нагреть раствор на спиртовке до кипения. После нагревания бурый цвет раствора меняется на зеленый в результате образования хлорофиллоподобного производного цинка.

Задание: описать ход работы. Зарисовать схему опыта, указав окраску феофитина и производного хлорофилла, записать уравнения реакций.

Лабораторная работа 4.3 Спектры поглощения пигментов фотосинтеза

Часть электромагнитного спектра от 380 – 400 нм до 720 – 740 нм входит в понятие «видимый свет» и называется фотосинтетически активной радиацией. В пределах данного диапазона длин волн происходит поглощение света пигментами фотосинтеза. Каждый пигмент фотосинтеза имеет характерный спектр поглощения, который определяется строением молекул. Спектр поглощения данного раствора пигментов фотосинтеза в диапазоне 400÷720 нм позволяет видеть области максимума и минимума.

Цель работы: сравнить спектры поглощения хлорофиллов и каротиноидов.

Задачи работы: определить максимумы поглощения пигментов в красной и синей частях спектра.

Объекты: спиртовой раствор пигментов фотосинтеза.

Материалы и оборудование: 20 % раствор NaOH в капельнице, гексан, вода в капельнице, этанол, штатив с пробирками, пипетки Пастера, кюветы для спектрофотометрии, спектрофотометр.

Ход работы. Работа является продолжением предыдущих (4.1, 4.2.1 и 4.2.2).

При помощи спектрофотометра получить спектры поглощения в диапазоне 400÷720 нм с шагом 5 нм: спиртового раствора пигментов фотосинтеза, разведенного этанолом в 2 – 3 раза, раствор сравнения – этанол; гексанового слоя, полученного при разделении пигментов по Краусу, раствор сравнения – гексан; гексанового слоя, полученного при омылении хлорофилла, раствор сравнения – гексан.

Оформление результатов. Зарисовать спектры поглощения или вклеить в тетрадь распечатку спектрограммы. Разметить спектрограммы по цветам видимой части спектра: 400-440 нм – фиолетовый; 440-480 нм – синий; 480-500 нм – голубой; 500-560 нм – зеленый; 560-580 нм – желтый; 580-620 нм – оранжевый; 620-740 нм – красный.

Задание: выявить максимумы поглощения анализируемых растворов, объяснить различия вида спектров и положения максимумов поглощения.

ЗАНЯТИЕ 5

ЗАВИСИМОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА ОТ ВНУТРЕННИХ И ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ

Лабораторная работа 5.1 Обнаружение фотосинтеза методом крахмальной пробы (по Ю. Саксу)

Видимым продуктом фотосинтеза у высших растений является крахмал, который накапливается в виде зерен в хлоропластах листа. Перед опытом растения выдерживают 1 – 2 дня в темноте.

Цель работы: освоение методики демонстрационного опыта «крахмальная проба».

Материалы и оборудование: цветная бумага, ножницы, скрепки, электроплитка, химический стакан на 600 мл, водяная баня, чашка Петри, этанол – 250 мл на подгруппу, раствор Люголя.

Растения: невысокие экземпляры пеларгонии зональной в горшках.

Ход работы:



Листья на выдержанных в темноте растениях с обеих сторон покрыть полосками цветной бумаги с вырезанными в ней различными фигурами, скрепляя их скрепками, выставить растения на свет на 1 час.

По окончании экспозиции бумагу убирать, листья срезать, поместить на несколько минут в кипящую воду, затем перенести в стакан со спиртом, выдерживать на горячей бане до обесцвечивания тканей листа. Листья промыть водой, разложить в чашках Петри и залить раствором Люголя. Отметить окраску разных зон листа.

Задание: описать ход работы, зарисовать схему опыта и его результат. Объяснить причину появления окраски разных зон листа.

Лабораторная работа 5.2 Определение площади листьев

При изучении интенсивности фотосинтеза, дыхания, транспирации чаще всего получаемые величины рассчитывают на единицу листовой поверхности, поэтому возникает необходимость ее измерения.

5.2.1 Метод отпечатков

Цель работы: определить площадь листьев разных видов растений.

Материалы и оборудование: тетрадная бумага, ножницы, весы технические.

Растения: листья пеларгонии, гибискуса, традесканции. Можно использовать листья древесных и травянистых растений.

Ход работы:

Лист растения наложить на тетрадную бумагу, обводят контур остро отточенным карандашом, получить отпечаток листа. Вырезать бумагу по контуру листовой пластинки, взвесить. Одновременно из такой же бумаги вырезать квадрат площадью 100 см^2 ($10 \times 10 \text{ см}$), и взвесить. Площадь исследуемого листа рассчитать по формуле $S = a \cdot c / b$, где a – масса контура листа, г; b – масса квадрата бумаги, г; c – площадь квадрата бумаги, см^2 .

Данный метод прост и достаточно точен, но малопроизводителен. Кроме того, его практически нельзя использовать при исследовании гофрированных и сложных листьев.

Задание: описать ход работы, сравнить площадь листьев разных видов растений.

5.2.2 Метод высечек

Цель работы: определить площадь листьев разных видов растений.

Материалы и оборудование: ножницы, весы технические, сверла.

Растения: листья пеларгонии, гибискуса, традесканции.

Ход работы:

С растений быстро срезать листья и взвесить. Затем из каждого листа пробочным сверлом определенного диаметра выбрать несколько высечек, объединить их и взвесить. Площадь исследуемого листа рассчитать по формуле $S = a \cdot c / b$, где a – общая масса сырых листьев, г; b – общая масса сырых высечек, г; c – площадь квадрата бумаги, общая площадь высечек, см^2 .

Данный метод наиболее доступен и продуктивен, особенно ценен в полевых условиях.

Лабораторная работа 5.3 Определение концентрации пигментов фотосинтеза в сухих и влажных слоевищах лишайников

Лишайники – пойкилогидрические организмы. Интенсивность фотосинтеза лишайников определяется суммой воздействия факторов окружающей среды. Необходимым условием их жизнедеятельности является обеспеченность водой: содержание воды 60–80 % от абсолютно сухого веса лишайников является оптимальным для протекания фотосинтеза. Активация фотосинтеза у лишайников происходит при увлажнении талломов.

Цель работы: определить концентрацию пигментов фотосинтеза в сухих и увлажненных талломах лишайников, рассчитать их соотношение.

Материалы и оборудование: весы технические, ступка с пестиком, пробирка, воронка, фильтр, мерный цилиндр на 10 мл, чашка Петри, 2 кюветы для спектрофотометрии, 85 % раствор ацетона (20 мл на одну пару студентов), CaCO_3 , песок, спектрофотометр.

Растения: сухие слоевища листоватых или кустистых лишайников.

Ход работы:

Взвесить две навески сухого лишайника по 0,1 г. Одну навеску поместить в чашку Петри, прилить 5 мл воды, закрыть крышкой, оставить на 20 – 30 мин.

Другую навеску сухого лишайника 0,1 г поместить в фарфоровую ступку, прибавить на кончике шпателя CaCO_3 , небольшое количество кварцевого песка (для лучшего растирания) и 1-2 мл 85 % раствора ацетона. Тщательно и быстро растереть в ступке, постепенно добавляя (после получения однородной массы) ацетон – всего 10 мл на один образец. Гомогенат вместе с осадком отфильтровать в пробирку через складчатый фильтр.

В полистирольную кювету для спектрофотометрии налить с ацетоновый раствор пигментов фотосинтеза сухого лишайника. Прогреть спектрофотометр, произвести измерение оптической плотности раствора пигментов при 452,5, 644 нм и 663 нм. Раствором сравнения является 85 % раствора ацетона.

Для расчета концентрации пигментов фотосинтеза использовать формулы Реббелена для 85%-ного ацетона:

$$C_{\text{хла}} = 10,3 \cdot D_{663} - 0,918 \cdot D_{644},$$

$$C_{\text{хлб}} = 19,7 \cdot D_{644} - 3,87 \cdot D_{663},$$

$$C_{\text{хл(a+b)}} = 6,4 \cdot D_{663} + 18,8 \cdot D_{644},$$

$$C_{\text{кар}} = 4,75 \cdot D_{452,5} - 0,226 \cdot C_{\text{a+b}},$$

где C – концентрация хлорофиллов a , b и каротиноидов в мг/л, D – оптическая плотность раствора при 452,5, 644 нм и 663 нм.

Вынуть из чашки Петри увлажненный образец лишайника. Произвести аналогичное выделение пигментов фотосинтеза, измерение оптической плотности раствора и расчет концентрации пигментов.

Задание: рассчитать соотношения концентраций хла/хлб, хл(a+b)/кар для сухих и влажных слоевищ лишайника, сделать вывод об оптимизации фотосинтеза лишайника после увлажнения таллома.

ЗАНЯТИЕ 6. ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ФОТОСИНТЕЗА – УСР

Форма выполнения заданий: создание презентаций по всем предложенным вопросам.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Электронно-возбужденное состояние пигментов и типы дезактивации возбужденных состояний. Миграция энергии в системе фотосинтетических пигментов.

2 Преобразование энергии в реакционном центре фотосинтеза. Реакции, связанные с выделением кислорода в фотосинтезе.

3 Структура электрон-транспортной цепи фотосинтеза. Фотосинтетическое фосфорилирование.

4 Характеристика основных типов фотофосфорилирования: циклического, нециклического, псевдоциклического.

5 C_3 -путь фотосинтеза, основные этапы, их характеристика. Природа первичного акцептора углекислоты. Первичные продукты фотосинтеза, их превращения.

6 C_2 -путь, фотодыхание и метаболизм гликолевой кислоты экологическая роль.

7 C_4 -путь фотосинтеза, его особенности и характеристика, экологическая роль.

8 НАДН-МДГ C_4 -путь фотосинтеза, схема, особенности и характеристика.

9 НАДФН-МДГ C_4 -путь фотосинтеза, схема, особенности и характеристика.

10 ФЕП-КК C_4 -путь фотосинтеза, схема, особенности и характеристика.

11 Метаболизм углерода по типу толстянковых (САМ-цикл), экологическая роль.

12 Внутриклеточный и ближний транспорт ассимилятов в листе. Дальний транспорт ассимилятов в растениях.

Форма работы – индивидуальная.

Форма контроля выполнения заданий: проверка презентаций.

Для создания презентации следует ознакомиться с основными учебниками по дисциплине, внимательно прочитать текст лекций, после чего составить презентацию, иллюстрирующую данный учебный материал. Иллюстрации можно брать как из книг, так и в готовом виде в интернете. Основное требование: презентация должна в наилучшей мере отражать суть изучаемого материала. Каждый слайд должен быть подписан. Слайды с текстом лекций, или любыми другими текстами (на слайде находится только текст) – не допускаются и не засчитываются. Объем презентации – не менее 50 слайдов. Гото-

вым презентациям в виде файлов с расширением ppt, или pptx следует дать в название свою фамилию на русском языке. Например, название файла Иванов.pptx означает, что данная работа выполнена г-ном Ивановым. Готовые презентации представить на проверку.

ЗАНЯТИЕ 7. ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ДЫХАНИЯ РАСТЕНИЙ

Лабораторная работа 7.1 Определение активности дегидрогеназ в набухших семенах

Дегидрогеназы – это ферменты, активирующие и отщепляющие водород от окисляемого субстрата. Обнаружение дегидрогеназ основано на их способности передавать водород какому-нибудь акцептору, который, восстанавливаясь, меняет свою окраску. В качестве акцептора водорода может быть взята метиленовая синь, переходящая в восстановленном состоянии в бесцветную лейкоформу.

Цель работы: обнаружить присутствие дегидрогеназ в живых семенах фасоли.

Материалы и оборудование: 1 % раствор метиленовой сини, электроплитка, водяная баня, пробирки – по 2 на стол, резиновые пробки для пробирок, химические стаканы.

Растения: набухшие суточные семена подсолнечника однолетнего, рапса посевного, любой зерновой культуры.

Ход работы:

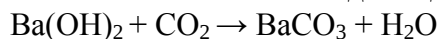
С набухших семян снять кожуру. Часть семян прокипятить в течение 10 минут (в химическом стакане на электроплитке). Затем по 3 шт. живых (опытных) и убитых (контрольных) семян поместить в две пронумерованные пробирки, залить 1 % раствором метиленовой сини, выдержать 20 мин. Через 20 мин раствор метиленовой сини из пробирок слить, семена промыть водопроводной водой. После промывания все семена должны иметь темно-синюю окраску. Окрашенные семена в пробирках залить водой, пробирки закрыть пробками и поставить на водяную баню с температурой 25 – 30 °С.

Через 1,5–2 часа можно заметить, что непрокипяченные семена теряют синюю окраску. Это происходит потому, что дегидрогеназы, участвующие в дыхании клеток, активировали и сняли водород с дыхательного материала, а затем передали его на метиленовую синь, которая восстановилась и обесцветилась. Если с обесцвеченных семян слить воду, то на воздухе они снова синеют, так как лейкоформа метиленовой сини окисляется. Семена в контрольной пробирке остаются синими, поскольку при кипячении дегидрогеназы разрушились.

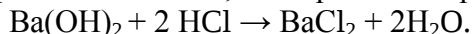
Задание: описать схему опыта, зарисовать живые и мертвые семена, сделать вывод о работе дегидраз семян исследуемых видов растений.

Лабораторная работа 7.2 Определение интенсивности дыхания в закрытом сосуде (по Бойсен-Иенсену)

Метод заключается в учете количества CO₂, выделяемого семенами при дыхании. Процесс поглощения диоксида углерода баритом можно записать в виде следующего уравнения:



Избыток барита, не прореагировавшего с CO₂, оттитровывают раствором HCl:



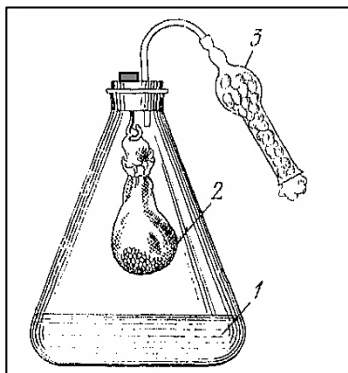
Цель работы: доказать, что при дыхании растений выделяется CO₂ и определить интенсивность дыхания у сухих и проросших семян разных растений.

Материалы и оборудование: конические колбы на 250 мл – 3 шт., бюретка на 25 мл для титрования и на 100 мл для дозирования раствора Ba(OH)₂, штативы для бюреток, мерная пипетка на 20 мл, резиновые пробки, пробки с крючком для подвешивания образцов, марля, нитки, ножницы; 0,02 н раствор Ba(OH)₂, 0,02 н раствор HCl, свежий 1 % раствор фенофталеина – 100 мл на все занятие (1 г на 100 мл этанола), лабораторные весы.

Растения: проросшие и сухие семена разных сельскохозяйственных культур.

Ход работы:

Опыт ставится в конических колбах. Перед опытом все колбы держат открытыми в течение 15-20 минут. Количество колб должно соответствовать числу опытных объектов + контроль..



В марлевые мешочки поместить 4-5 г семян. В колбы (рисунок) налить по 20 мл 0,02 н Ва(ОН)₂ (1) и закрыть колбы пробками. В опытные колбы, приоткрыв, быстро подвесить на крючок пробки мешочки с сухими и проросшими семенами (2). Одну колбу с раствором Ва(ОН)₂ оставить в качестве контроля. Выдержать все колбы 40 мин при комнатной температуре (20 °С). В течение опыта периодически осторожно покачивать колбы, чтобы разрушить пленку ВаСО₃, образующуюся на поверхности барита и препятствующую полноте поглощения СО₂.

Затем быстро вынуть из колбы мешочек с семенами, добавить три капли фенолфталеина и оттитровать избыток барита 0,02 н раствором НСl до слабо-розового окрашивания, исчезающего от одной капли кислоты. Так же оттитровать барит в контрольной колбе.

Интенсивность дыхания J (в мг СО₂, выделяемого 1 г семян естественной влажности за 1 ч) рассчитать по формуле:

$$J = \frac{(a - b) \cdot 0,44 \cdot 60}{t \cdot n}$$

где a и b – количества 0,02 н соляной кислоты, израсходованной на титрование барита соответственно в контрольном и опытном вариантах, мл; 0,44 – количество СО₂, мг, соответствующее 1 мл 0,02 н раствора соляной кислоты; n – масса семян, г; t – время экспозиции, мин; 60 – коэффициент пересчета на 1 ч.

Результаты опыта записать в таблицу.

Интенсивность дыхания семян

Объект	Навеска семян n , г	Объем барита, мл	Объем 0,02 н НСl, пошедшей на титрование		$(a-b)$, мл	Интенсивность дыхания мг СО ₂ , выделяемого 1 г семян естественной влажности за 1 ч
			контроль a , мл	опыт b , мл		
Сухие семена						
Проросшие семена						

Задание: описать ход работы. Заполнить таблицу, сделать вывод об интенсивности дыхания сухих и проросших семян.

Лабораторная работа 7.3 Определение активности каталазы в растительных объектах

В процессе дыхания в качестве побочного продукта окисления веществ образуется пероксид водорода, оказывающий в высоких концентрациях токсичное действие на цитоплазму. Нейтрализация пероксида водорода при участии фермента каталазы идет до воды и молекулярного кислорода по уравнению: $2\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{каталаза}} 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. Об активности каталазы судят по объему кислорода, выделяющегося в результате разложения пероксида водорода.

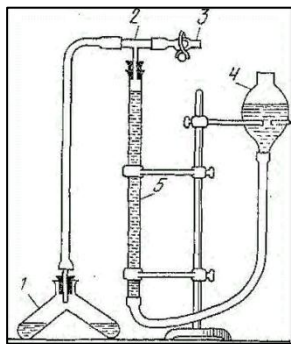
Цель работы: освоить методику определения активности каталазы в растительных тканях и определить активность каталазы в листьях комнатных растений.

Материалы и оборудование: промытый речной песок, порошок мела, 3 % раствор перекиси водорода, фарфоровая ступка с пестиком, пипетки на 5 мл, мерные цилиндры на 10 мл, прибор для определения активности каталазы, весы.

Растения: листья пеларгонии зональной, гибискуса китайского и туи западной.

Ход работы:

Перед началом работы следует ознакомиться с прибором для определения каталазной активности. Для определения объема кислорода, выделяющегося при разложении пероксида водорода, использовать установку (рисунок), которая состоит из каталазника 1, бюретки на 50 мл 5 и стеклянной грушевидной воронки 4, соединенных трубками и стеклянным тройником 2. Трубка на свободном конце тройника снабжена зажимом 3. Бюретка и грушевидная воронка закреплены в штативе. Их заполняют дистилли-



рованной водой до половины объема. Навеску листьев 0,2 г растереть в фарфоровой ступке с кварцевым песком, добавить 0,2 г мела для создания щелочной реакции (рН 7,7 оптимальна для работы каталазы). Во время растирания влить небольшими порциями 10 мл воды, смесь внести в одно колено каталазника. В другое колено поместить 5 мл 3 % раствора перекиси водорода. Каталазник закрыть пробкой с трубкой, не допуская смешивания жидкостей.

При открытом зажиме, то есть при атмосферном давлении, поднимая или опуская грушу, установить в бюретке уровень жидкости на нулевом делении. Закрывать зажим и быстрым изменением положения каталазника смешать жидкость в обоих коленах. С этого момента начинают отсчет времени. Начнется выделение кислорода, который поступит в бюретку, и жидкость в ней опустится. Затем, все время встряхивая каталазник, по снижению уровня воды в бюретке отметить объем кислорода (в мл), выделенного в течение 3 минут.

Результаты записать в таблицу.

Определение активности каталазы

Растительный объект	Навеска, г	Выделилось O_2 за 3 мин, мл	Активность каталазы, мл O_2 на 1 г сырого материала за 1 мин
Пеларгония зональная			
Гибискус китайский			
Туя западная			

Задание: описать ход работы. Заполнить таблицу, сделать вывод об активности каталазы в листьях испытуемых видов растений.

ЗАНЯТИЕ 8. **ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ДЫХАНИЯ – УСР**

Форма выполнения заданий: создание презентаций по всем предложенным вопросам.

Перечень изучаемых вопросов:

- 1 Гликолиз, суть его реакций, энергетика. Синтез сахаров при обращении гликолиза.
- 2 Цикл трикарбоновых кислот, характеристика основных стадий цикла, энергетика, роль в клеточном метаболизме.
- 3 Обмен метаболитами цикла трикарбоновых кислот между митохондриями и цитозолем.
- 4 Конверсия жиров в углеводы. Цикл Кребса-Корнберга (глюколатный цикл).
- 5 Пентозомонофосфатный путь окисления глюкозы и его роль в метаболизме клетки.
- 6 Использование в качестве дыхательных субстратов жиров и белков. Взаимосвязь превращений углеводов, белков и жиров.
- 7 Электрон-транспортная цепь дыхания: структурная организация, основные комплексы переносчиков электронов.
- 8 Разнообразие путей переноса электронов и протонов у растений. Альтернативность каталитических механизмов биологического окисления.
- 9 Сопряженность электронного транспорта с синтезом АТФ. Терминальные оксидазы, их локализация и назначение.
- 10 Дыхание в фотосинтезирующей клетке.

Форма работы – индивидуальная.

Форма контроля выполнения заданий: проверка презентаций.

Для создания презентации следует ознакомиться с основными учебниками по дисциплине, внимательно прочитать текст лекций, после чего составить презентацию, иллюстрирующую данный учебный материал. Иллюстрации можно брать как из книг, так и в готовом виде в интернете. Основное требование: презентация должна в наилучшей мере отражать суть изучаемого материала. Каждый слайд должен быть подписан. Слайды с текстом лекций, или любыми другими текстами (на слайде находится

только текст) – не допускаются и не засчитываются. Объем презентации – не менее 40 слайдов. Готовым презентациям в виде файлов с расширением ppt, или pptx следует дать в название свою фамилию на русском языке. Например, название файла Иванов.pptx означает, что данная работа выполнена г-ном Ивановым. Готовые презентации представить на проверку.

ЗАНЯТИЕ 9. ПОСТУПЛЕНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В РАСТЕНИЯ

Лабораторная работа 9.1 Обнаружение отдельных элементов, входящих в состав растений

Минеральные элементы поглощаются главным образом корнями растений. В природной обстановке источником минерального питания является почва, в искусственных условиях растения могут выращиваться на жидких питательных средах. Но в любом случае в составе питательного раствора должны содержаться макроэлементы и микроэлементы, которые называются необходимыми. К необходимым макроэлементам относятся азот, фосфор, калий, кальций, магний и сера. Из микроэлементов наиболее изучена физиологическая роль железа, бора, цинка, меди, марганца и молибдена. В почвенном растворе ионы либо находятся в свободном состоянии, либо связаны с почвенными коллоидами. Поглощаются элементы минерального питания чаще всего в ионной форме. При сжигании растений поглощенные ими минеральные элементы остаются в несгораемой части – золе, – которая может составлять от 5 до 20 % от общей массы растений. Качественный состав золы неодинаков и зависит от видовых особенностей растений и условий произрастания.

Цель работы: познакомиться с методами обнаружения минеральных веществ в растительной клетке.

Материалы и оборудование: штативы с пробирками, пипетки на 5 мл, колбы на 100 мл, электрическая плитка, технические весы, микроскоп, предметные стекла, стеклянные палочки, фильтры, воронки стеклянные, универсальная индикаторная бумага, дистиллированная вода, концентрированная HNO_3 , 5 % раствор NaOH , 2 % раствор HCl , 5 % раствор щавелевой кислоты, 10 % раствор $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 1 % раствор уксусной кислоты, 10 % раствор BaCl_2 , 10 % раствор HNO_3 , 5 % раствор NH_4CNS , 10 % раствор аммиака, 1 % раствор Na_2HPO_4 , этиловый спирт – 5 мл на одну пару студентов, кобальт нитрит натрия $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ кристаллический, надсерноокислый аммоний $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (или перекись свинца PbO_2) кристаллический, азотнокислый аммоний NH_4NO_3 кристаллический.

Растения: зола растений.

Ход работы:

Навеску золы 1 г поместить в фарфоровый тигель, добыть 1 мл концентрированной HNO_3 , перемешать, прилить 15 мл воды, нагреть до кипения, быстро отфильтровать горячий раствор от нерастворимых частиц угля и кремнезема. Фильтрат разделить на две части. Одну часть разлить в три пробирки по 2-3 мл для открытия макроэлементов (калия, фосфора и серы). Другую часть фильтрата довести 5 % раствором NaOH (приливая его по каплям) до слабо щелочной реакции и отфильтровать выпавший студенистый осадок. Осадок сохранить для определения микроэлементов, а щелочной раствор после его нейтрализации 2 % HCl и слабого подкисления несколькими каплями уксусной кислоты перелить в четвертую пробирку, и использовать для открытия кальция.

Для открытия макроэлементов проделать с растворами следующие реакции (см. таблицу).

Одновременно с операциями в пробирках провести те же реакции на предметных стеклах, после чего рассмотреть кристаллы выпавших осадков под микроскопом при малом увеличении и без покровного стекла, и зарисовать их.

На предметном стекле: маленькие капли исследуемого раствора и реактива нанести на расстоянии 1 см друг от друга. Затем чистой стеклянной палочкой соединить капли тонким дугообразным каналцем. В месте соединения произойдет реакция, а по краям каналца раньше, чем на других участках, начнется кристаллизация продуктов реакции (рисунок).



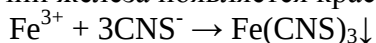
Открытие макроэлементов в золе*

Ион	Проведение реакции, уравнение реакции	Результат
K ⁺	Прибавить на кончике смоченной стеклянной палочки сухого кобальт-нитрита и 1-2 мл этилового спирта. Оставить на 30 мин. $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6] + 2\text{KNO}_3 \rightarrow \text{NaK}_2[\text{Co}(\text{NO}_2)_6] \downarrow + 2\text{NaNO}_3$	Желтый осадок
Ca ²⁺	Прилить 0,5 – 1 мл 5 % раствора щавелевой кислоты $\text{Ca}^{2+} + \text{C}_2\text{O}_4^{2-} \rightarrow \text{CaC}_2\text{O}_4 \downarrow$	Белая муть или белый осадок
PO ₄ ³⁻	Внести небольшой кристалл NH ₄ NO ₃ , нагреть до кипения и прибавить 1 мл 10 % раствора (NH ₄) ₂ MoO ₄ $\text{H}_3\text{PO}_4 + 12(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4 + 21\text{HNO}_3 \rightarrow (\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3 \downarrow + 21\text{NH}_4\text{NO}_3 + 12\text{H}_2\text{O}$	Золотисто-желтый осадок
SO ₄ ²⁻	Прилить 1 мл 10 % раствора BaCl ₂ $\text{SO}_4^{2-} + \text{Ba}^{2+} \rightarrow \text{BaSO}_4 \downarrow$	Белая муть или белый осадок
Mg ²⁺	Прилить 1 мл 10 % раствора аммиака, затем – 2 мл 1 % раствора Na ₂ HPO ₄ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NH}_3 \rightarrow \text{NH}_4\text{MgPO}_4 \downarrow + 2\text{NaNO}_3$	Белая муть или белый осадок

* – приведенные в таблице реакции проводят и в пробирках, и на предметных стеклах.

Следующие реакции провести только в пробирках.

Облить осадок, оставшийся на фильтре, 10 мл 10 % раствора HNO₃ и разлить раствор в две пробирки по 2-3 мл. Для открытия железа в одну пробирку прилить 2-3 капли 5 % раствора NH₄CNS – при наличии железа появляется красное окрашивание раствора – выпадает осадок роданида железа.



Для открытия марганца прилить к осадку 0,5 мл концентрированной HNO₃ и добавить около 0,1 г надсернистого аммония (или 0,5 г перекиси свинца), нагреть в течение 4-5 мин. в кипящей воде. При наличии марганца раствор окрашивается в фиолетовый цвет.

Задание: описать ход работы, в таблицу вставить собственные рисунки, сделанные по результатам микроскопии полученных продуктов реакции. Сделать вывод о химическом составе золы.

Лабораторная работа 9.2 Демонстрационные опыты на тему «Корень как орган поглощения воды и минеральных веществ»

Корневая система поглощает минеральные вещества из почвы в виде растворов вместе с водой. Корневые волоски принимают непосредственное участие в их поглощении.

9.2.1 Наблюдение корневых волосков

Цель работы: описать внешнее строение первичного корня.

Материалы и оборудование: лупа, стеклянные бюксы 3 шт., предметные стекла, покровные стекла, растворы метиленовой сини и эозина, склянка с водой, пинцет.

Растения: 10-дневные проростки любых зерновых культур.

Ход работы:

В стеклянные бюксы налить воду, растворы метиленовой сини и эозина на высоту около 1 мм. Поместить проростки, долить жидкости так, чтобы была покрытой вся корневая система. Через 15 мин промыть корневые системы проростков, находившихся в растворах метиленовой сини и эозина, под лупой рассмотреть внешний вид корневой системы проростков, выделить зоны корня, зарисовать. Пинцетом отделить один корешок, поместить на предметное стекло, добавить каплю воды, накрыть покровным стеклом, под микроскопом рассмотреть зоны перемещения красителей.

Задание: описать ход работы, зарисовать строение первичного корня. Сделать вывод о роли корневых волосков в поглощении веществ из внешней среды.

9.2.2 Выделение воды из корня

Цель работы: описать реакцию первичного корня на помещение в гипертонический раствор.

Материалы и оборудование: стеклянные бюксы 2 шт., насыщенный раствор NaCl.

Растения: 10-дневные проростки гороха или фасоли.

Ход работы:

В стеклянные бюксы налить воду и насыщенный раствор NaCl. Отобрать два более или менее одинаковых проростка, поместить их в бюксы, долить жидкости так, чтобы был покрыт весь корень.

Через 15 мин проростки вынуть из бьюксов, определить наличие тургора в их корнях.

Задание: описать ход работы. Сделать вывод о причине потери тургора корнем одного из проростков.

ЗАНЯТИЕ 10

АССИМИЛЯЦИЯ АЗОТА, ФОСФОРА И СЕРЫ – УСР

Форма выполнения заданий: создание презентаций по всем предложенным вопросам.

Перечень изучаемых вопросов:

- 1 Формы азота, используемые растением.
- 2 Поглощение и усвоение нитрата.
- 3 Поглощение и ассимиляция аммония.
- 4 Симбиотическая фиксация атмосферного азота.
- 5 Интеграция азотного метаболизма на уровне целого растения.
- 6 Характерные особенности фосфорного питания растений.
- 7 Основные типы фосфорсодержащих соединений.
- 8 Транспорт фосфата через мембраны.
- 9 Метаболизм фосфата.
- 10 Ответные реакции растительного организма на дефицит фосфата.
- 11 Серосодержащие органические соединения.
- 12 Поглощение и транспорт сульфата.
- 13 Ассимиляторное восстановление сульфата.
- 14 Глутатион и его производные в обмене серы у растений.

Форма работы – индивидуальная.

Форма контроля выполнения заданий: проверка презентаций.

Для создания презентации следует ознакомиться с основными учебниками по дисциплине, внимательно прочитать текст лекций, после чего составить презентацию, иллюстрирующую данный учебный материал. Иллюстрации можно брать как из книг, так и в готовом виде в интернете. Основное требование: презентация должна в наилучшей мере отражать суть изучаемого материала. Каждый слайд должен быть подписан. Слайды с текстом лекций, или любыми другими текстами (на слайде находится только текст) – не допускаются и не засчитываются. Объем презентации – не менее 40 слайдов. Готовым презентациям в виде файлов с расширением ppt, или pptx следует дать в название свою фамилию на русском языке. Например, название файла Иванов.pptx означает, что данная работа выполнена г-ном Ивановым. Готовые презентации представить на проверку.

ЗАНЯТИЕ 11

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ УСЛОВИЙ НА ПОГЛОЩЕНИЕ И УСВОЕНИЕ РАСТЕНИЕМ МИНЕРАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

Лабораторная работа 11.1 Физиологическая реакция солей

Корневые системы растений способны поглощать катионы и анионы избирательно, т.е. не в том соотношении, в котором они находятся в питательном растворе. При этом происходит изменение pH среды. Если из растворов солей растение поглощает больше катионов, а анионы накапливаются в среде, то pH раствора смещается в кислую сторону. Такая соль называется физиологически кислой. Физиологически щелочной солью называется такая соль, из раствора которой корни берут анионы, а катионы накапливаются в среде и подщелачивают ее. Физиологическую реакцию солей необходимо учитывать при выращивании растений на искусственных питательных смесях и внесении удобрений в полевых условиях. В последнем случае надо знать реакцию почвенного раствора.

Цель работы: установить физиологическую реакцию солей.

Материалы и оборудование: штатив, пробирки 3 шт., индикаторная бумага, 0,1 М растворы $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 и NaNO_3 .

Растения: 10-дневные проростки любых зерновых культур.

Ход работы:

В пробирки на 2/3 их объема налить 0,1 М растворов $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 и NaNO_3 . При помощи индикаторной бумаги определить pH растворов. Затем в растворы поместить 6 – 8 проростков испытуемых культур. Через 2–2,5 ч снова определить значение pH исследуемых растворов и сделать вывод о физиологической реакции солей. Результаты опыта записать в таблицу.

Физиологическая реакция солей

Растворы солей	Исходное значение pH	Конечное значение pH	Физиологическая реакция солей
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$			
NH_4NO_3			
NaNO_3			

Задание: описать схему опыта, на основании полученных данных сделать вывод о физиологической реакции солей.

Лабораторная работа 11.2 Определение общей и рабочей адсорбирующей поверхности корневой системы (по И.И. Колосову)

Важным и наиболее убедительным показателем для характеристики развития корневой системы является ее величина и поглощающая поверхность.

Общая адсорбирующая поверхность корней складывается из величины деятельной (рабочей), поглощающей и недейтельной поверхностей. Под *рабочей* поверхностью корней понимается та часть ее поверхности, которая адсорбирует вещества из окружающей среды, а затем десорбирует их внутрь клеток корня.

Не рабочей поверхностью считается та часть поверхности корня, которая поглощает вещества, но не передает их внутрь. Эта поверхность адсорбирует вещества, которые распределяются мономолекулярным слоем на поверхности корня, в результате очень быстро наступает предел поглощения веществ из раствора. В качестве адсорбирующих веществ следует брать такие вещества, которые легко адсорбируются на поверхности корня и являются безвредными для жизни растений.

Метод основан на применении в качестве адсорбирующего вещества метиленовой синей. Количество поглощенной корнем краски определяют по изменению ее концентрации в опытном растворе. Площадь, занимаемая 1 мг метиленовой синей равна 1,1 м².

Цель работы: определение общей и рабочей адсорбирующей поверхности корневой системы.

Материалы и оборудование: спектрофотометр, 4 кюветы к нему, раствор метиленовой сини (6,4 мг в 1 л дистиллированной воды), дистиллированная вода, фильтровальная бумага, 4 стакана, 0,2н раствор CaCl_2 , мерный цилиндр, пинцет.

Растения (на 1 рабочий стол): двухнедельные проростки любых сельскохозяйственных культур с развитыми корнями.

Ход работы:

Определить объем корневой системы. Корневую систему исследуемого растения пинцетом погрузить в мерный цилиндр с известным количеством воды. После погружения корня объем воды в цилиндре увеличится. Увеличение количества воды и будет составлять объем корня (в мл).

Затем налить в 3 стакана раствор метиленовой сини, объем которой должен быть примерно в 10 раз больше объема корней.

Корни просушить фильтровальной бумагой и погрузить последовательно в 3 стакана с метиленовой синью, выдерживая по 2 минуты в каждом стакане.

Далее при помощи спектрофотометра установить концентрацию метиленовой сини во всех стаканах, начиная со стандартного раствора, при длине волны 668 нм. В качестве стандартного раствора использовать исходный раствор метиленовой сини.

Концентрацию метиленовой сини в стаканах рассчитать по формуле: $C_x = C_1 \cdot D_1 / D_x$,

где C_x – концентрация метиленовой сини, соответственно в 1, 2, 3-м стаканах;

C_1 – концентрация метиленовой синей в стандартном растворе;

D_1 – оптическая плотность стандартного раствора;

D_x – оптическая плотность исследуемого раствора соответственно 1, 2, 3-го стаканов.

При поглощении метиленовой сини из первого и второго стаканов происходит адсорбционное насыщение всей поверхности корней. Из третьего стакана краска поглощается только рабочей адсорбирующей поверхностью. Следовательно, умножая $1,1 \text{ м}^2$ на число миллиграммов метиленовой сини, поглощенной из первого и второго стаканов вместе, можно получить величину общей адсорбирующей поверхности корня. Величину *рабочей адсорбирующей* поверхности можно найти, умножая $1,1 \text{ м}^2$ на количество миллиграммов краски, поглощенной из третьего стакана.

Разница между величинами *общей и рабочей адсорбирующей* поверхности дает представление о величине *недействительной* поверхности корневой системы. Частные от деления величин общей и рабочей адсорбирующих поверхностей на объем корней характеризуют удельную общую и рабочую адсорбирующие поверхности корня.

Окрашенные корни после извлечения их из третьего стакана промыть водой и поместить в стакан с раствором CaCl_2 . Наблюдается выделение метиленовой сини в обмен на адсорбированные катионы кальция. Это доказывает наличие обменной адсорбции поглощающей поверхностью корней.

Результаты опыта записать в таблицы. Вариантами опыта являются результаты, полученные студентами на всех рабочих столах, и усредненные по видам растений.

Определение объема корней и концентрации метиленовой сини

Вариант	Объем раствора метиленовой сини в стакане, мл	Начальное содержание метиленовой сини в стакане, мг	Осталось метиленовой сини в растворе после погружения корней, мг		
			стаканы		
			1	2	3

Определение адсорбирующей поверхности корней

Вариант	Поглощение корнями, мг				Поверхность корней, м^2			Удельная поверхность, м^2	
	стаканы				общая	рабочая	не рабочая	общая	рабочая
	1	2	1 + 2	3					

Задание: описать схему опыта, произвести расчеты, на основании полученных данных сделать вывод о величине общей и рабочей адсорбирующей поверхности корневой системы.

ЗАНЯТИЕ 12 **РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ**

Лабораторная работа 12.1 Диагностика глубины покоя растений по химическим показателям (по П. А. Генкелю и Е.З. Окниной)

При переходе древесных и кустарниковых растений в состояние покоя происходит превращение запасов крахмала, накопленных в течение лета, в масла, дающие окраску с таким реактивом, как Судан-3 (красно-оранжевое окрашивание). В весеннее время и к моменту сокодвижения происходит образование сахаров. Поэтому, исследуя химизм древесины или почек, можно диагностировать состояние покоя растений (предварительный, глубокий и вынужденный). Так как в разные периоды покоя неодинакова и морозоустойчивость растений (наивысшая морозоустойчивость приходится на период глубокого покоя), то одновременно это и метод диагностики морозоустойчивости растений.

Цель работы: определить глубину покоя древесных растений.

Материалы и оборудование: бритвы, предметное стекло, концентрированная H_2SO_4 , глицерин, растворы: йода в KI, Судан-3 (20 мг судана в 10 мл спирта и 10 мл глицерина), 2%-ный раствор α -

нафтола (2 г α -нафтола растворить в 100 мл этанола), 70%-ный этанол – 10 мл на одну пару студентов.

Растения: свежесрезанные ветки деревьев диаметром не менее 0,5 см.

Ход работы:

Сделать поперечные срезы однолетних зимующих ветвей древесных растений и продольные срезы их почек. Поместить срезы на предметные стекла и нанести (раздельно) капли следующих реактивов.

1. Йод-калий-йод: почернение с крахмалом.

2. Судан-3. Через 5-10 минут промыть срезы 70%-ным спиртом: оранжево-красное окрашивание с маслами.

3. Альфа-нафтол и далее 1-2 капли концентрированной серной кислоты: темно-малиновое окрашивание в присутствии сахаров.

При проведении этих проб в осенний период в древесине и почках обнаруживается крахмал, а масла, как правило, отсутствуют. В период глубокого покоя, наоборот, отсутствует крахмал, но получается интенсивная реакция на масла и сахара. Ближе к весне реакция на сахара усиливается, а на масла ослабевает. Отметить особенности реакции у разных пород, сравниваемых одновременно.

Чем более морозоустойчиво растение, тем более яркое окрашивание получается при использовании реактива Судан-3. При этом у почек следует обращать внимание на интенсивность окрашивания клеток зачаточных листьев и зоны под меристемой. Чем интенсивнее окрашивание этих тканей и чем больше клеток дает это окрашивание, тем более устойчиво растение к действию низких температур.

Задание: описать схему опыта. Сделать вывод о глубине покоя ветвей и почек древесных растений.

Лабораторная работа 12.2 Наблюдение периодичности роста древесных побегов

Побег растет неравномерно. Вначале наблюдается медленный рост, затем скорость роста увеличивается, достигает максимума, снова замедляется, и, наконец, рост прекращается. Таким образом, наблюдается периодичность роста побега, которая характеризуется законом большого периода роста.

Периодичность роста проявляется в том, что междоузлия, образующиеся по мере нарастания побега, имеют неодинаковую длину. В большинстве случаев она увеличивается от основания к середине побега, где достигает максимума, а к верхушке побега опять уменьшается.

Цель работы: оценить периодичность роста побегов древесных растений.

Материалы и оборудование: линейка, миллиметровая бумага.

Растения: ветки 3-4 видов деревьев (береза повислая, ива остролистная, туя западная и др.) длиной не менее 1,0 м.

Ход работы:

Измерить линейкой длину междоузлий побегов древесных растений. Результаты измерения занести в таблицу.

Ход роста древесных побегов

Номер междоузлия от основания побега	Береза повислая		Туя западная	
	длина междоузлия	длина побега	длина междоузлия	длина побега
1				
2				
3				
4				
5 и т.д.				

На листах миллиметровой бумаги построить графики прироста междоузлий и побега каждого вида деревьев. По оси абсцисс отложить номера междоузлий, считая от основания побега, по оси ординат – длину междоузлий и длину побега.

Задание: описать ход работы. Сделать вывод о периодичности роста побегов разных видов деревьев.

Лабораторная работа 12.3 Обнаружение запасных белков, крахмала и жиров в тканях растений

Цель работы: экспресс-определение белков, крахмала и жиров в тканях растений.

12.3.1 Экспресс-метод обнаружения белка в семенах разных видов растений.

Материалы и оборудование: ступки и пестики, мерный цилиндр на 10 мл, пробирки, стаканчики с водой, 30%-ный раствор NaOH, 5%-ный раствор CuSO₄.

Растения (на 1 рабочий стол): семена арахиса², фасоли (или гороха), овса (или другой зерновой культуры).

Ход работы:

Навеску 0,1 г семян растереть в ступке с 2 мл 30%-ного раствора NaOH, прилить 2 мл 5%-ного CuSO₄ и продолжить растирание. Смыть кашицу 10 мл воды в пробирку и оставить отстаиваться на 20-30 минут. Раствор над осадком окрашивается в фиолетовый цвет, пропорциональный по интенсивности содержанию белков (биуретовая реакция на белки).

Задание: описать схему опыта. По интенсивности фиолетовой окраски смесей в пробирках сделать вывод о содержании белка в семенах изучаемых видов растений.

12.3.2 Экспресс-метод обнаружения крахмала в семенах и древесине.

Материалы и оборудование: мерный цилиндр на 10 мл, ступки и пестики, выпарительные чашки, электроплитка, йодная спиртовая настойка, этанол для ее разбавления – 10 мл на подгруппу, нож.

Растения (на 1 рабочий стол): семена арахиса, фасоли (или гороха), овса (или другой зерновой культуры), свежесрезанные ветки деревьев диаметром не менее 0,5 см.

Ход работы:

Навеску 0,1 г семян растереть в ступке с 2 мл воды, перенести в выпарительную чашку, прилить еще 2 мл воды, довести до кипения, охладить, добавить каплю йодной настойки. Определить по окрашиванию, имеется ли крахмал в семенах.

Снять с веток кору и приготовить 1,1 – 1,2 г стружек заболонной³ древесины ветвей изучаемых видов деревьев. Стружки поместить в выпарительную чашку, прилить 5 мл воды, прокипятить для извлечения крахмала. Слить раствор в другую чашку и упарить до 0,5 – 1,0 мл, затем охладить. Прибавить каплю разбавленной спиртом йодной настойки. При наличии крахмала раствор окрашивается в синий или черный цвет.

Задание: описать схему опыта. По наличию окраски и ее интенсивности сделать вывод о содержании крахмала в семенах и древесине изучаемых видов растений.

12.3.3 Экспресс-метод открытия масел в семенах.

Материалы и оборудование: писчая бумага размером 10 x 10 см, пестик.

Растения (на 1 рабочий стол): семена арахиса, фасоли (или гороха), овса (или другой зерновой культуры)

Ход работы:

Поместить на листке бумаги навеску 0,1 г семян. Пестиком раздавить каждое семя, выдавливая из него масло. Просмотреть бумагу на свет. Подсчитать количество пятен масла, окрашенных в буроватый цвет, и рассчитать процент семян, давших эти пятна. В бурый цвет окрашено масло семян, утративших всхожесть.

Задание: описать схему опыта. Сделать вывод о содержании жира в семенах изучаемых видов растений и их всхожести.

² Можно предложить студентам принести для анализа любимые ими орехи и/или семечки – обязательно не жаренные.

³ Заболонь, или подкорье – наружные молодые, физиологически активные слои древесины стволов, ветвей и корней, примыкающие к образовательной ткани – камбию. Часть клеток заболони содержит запасные вещества.

ЗАНЯТИЕ 13

СТРЕСС И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ У РАСТЕНИЙ

Лабораторная работа 13.1 Действие криопротекторов на жизнеспособность клеток растительных тканей при замораживании

При воздействии отрицательных температур на растительные ткани в межклетниках образуется лед, который, оттягивая воду из клеток, обезвоживает протоплазму. Кристаллы льда, образующиеся непосредственно в клетках, оказывают механическое воздействие, в результате чего нарушается внутренняя структура протоплазмы, резко повышается ее проницаемость, а при длительной экспозиции на морозе наступает отмирание. Скорость отмирания протоплазмы клеток зависит как от температуры и времени экспозиции, так и от водоудерживающей способности самой клетки. Увеличение количества растворимых сахаров в зимующих органах растений повышает водоудерживающую способность тканей.

Цель работы: показать, что защитное действие смеси глицерина и сахарозы, используемых в качестве криопротекторов, выше, чем действие их чистых растворов.

Материалы и оборудование: кристаллизатор, скальпели, лезвия, термометр со шкалой до +50 °С, водяная баня, электроплитка, пробирки – 7 шт., штатив для пробирок, химические стаканы, линейки, поваренная соль, снег или кубики льда, 12 %-ный раствор глицерина, 0,5М, 1М и 2М растворы сахарозы, мерный цилиндр на 10 мл.

Растения: корнеплоды свеклы.

Ход работы:

Вариантами опыта являются результаты, полученные каждой парой студентов. Корнеплод столовой свеклы очистить от кожуры, вырезать кусочки размером 5 x 5 x 5 мм – 35 шт. на одну пару студентов. Кусочки корнеплода поместить в химический стакан, тщательно промыть водопроводной водой, чтобы удалить клеточный сок, вытекающий из поврежденных клеток.

Отмытые кусочки корнеплода по 5 штук помещают в 7 пробирок, в каждой из которых находится по 5 мл следующих жидкостей:

- 1) дистиллированной воды;
- 2) 2М раствора сахарозы;
- 3) 1М раствора сахарозы;
- 4) 12 %-ного раствора глицерина;
- 5) 12%-ного раствора глицерина и 2М раствора сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл);
- 6) 12%-ного раствора глицерина и 1М раствора сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл);
- 7) 12 %-ного раствора глицерина и 0,5М раствора сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл).

Все пробирки поместить в охлаждающую смесь, состоящую из трех частей снега или льда и одной части сухой поваренной соли (температура -21 °С). Пробирки выдержать в ней до полного замерзания содержимого.

После этого пробирки перенести в водяную баню с температурой 25-30 °С для размораживания. После оттаивания растворы тщательно перемешать, сравнить интенсивность их окрашивания.

Задание: описать ход работы. Расположить пробирки в ряд по мере увеличения интенсивности окрашивания растворов. Установить связь между интенсивностью окрашивания растворов и составом смесей, находящихся в этих пробирках. Сделать выводы о роли криопротекторов (сахарозы и глицерина) и их смесей в сохранении жизнеспособности клеток растительных тканей при их замораживании.

Лабораторная работа 13.2 Определение устойчивости тканей листьев растений к высоким температурам

При экстремальных воздействиях на растительные ткани, например при повышении температуры, мембраны клетки, в том числе и мембраны хлоропластов, теряют свойство полупроницаемости. Вследствие этого ионы водорода, присутствующие в клетке, замещают атом Mg в молекуле хлорофилла, который превращается в феофитин, имеющий бурый цвет. Чем больше хлорофиллоносных клеток повреждено, тем большая площадь листа буреет.

Цель работы: сравнить устойчивость к высоким температурам листьев разных видов растений.

Материалы и оборудование: нитки, плотная бумага для этикеток, ножницы, водяная баня, электроплитка, термометр, кристаллизаторы, листы белой бумаги, 0,2 М раствор HCl.

Растения: листья комнатных растений – пеларгонии, гибискуса, традесканции.

Ход работы:

Вариантами опыта являются результаты, полученные каждой парой студентов. Из плотной бумаги вырезать этикетки, на них записать значение максимальной температуры, при которой будут выдерживаться листья – 40, 45, 50, 55 и 60 °С. Этикетки нитками привязать к черешкам листьев.

В водяной бане установить и поддерживать температуру 40 °С. В воду одновременно опустить листья растений, взятых для опыта. Первую пробу извлечь из бани через 20 мин, перенести в кристаллизатор с водой комнатной температуры. Затем температуру в бане поднять на 5 °С. Через 5 мин после этого извлечь вторую пробу листьев, их также перенести в кристаллизатор с водой. Постепенно температуру воды в бане довести до 60 °С, забирая пробы каждые 5 мин после увеличения температуры в бане на каждые 5 °С.

Затем листья извлечь из воды комнатной температуры и залить 0,2 М раствором HCl, в котором листья приобретают бурую окраску (если у растений клеточный сок кислый, то листья буреют уже в воде). Время пребывания в кислоте должно быть одинаковым для всех листьев.

Через 10 мин листья извлечь из раствора соляной кислоты, промыть водой, разложить на листах белой бумаги в порядке увеличения площади бурой окраски.

Задание: описать ход работы. Сравнить степень повреждения листьев при разной температуре у разных растений. Листья зарисовать и раскрасить поврежденные участки. Сделать выводы об устойчивости тканей листьев растений разных видов к высоким температурам.