

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Департамент научно-технологической политики и образования



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования

**«Нижегородская государственная
сельскохозяйственная академия»**

Кафедра Лесоводство и лесозащита

Физиология лесных растений

Учебно-методическое пособие
по подготовке к лабораторным занятиям
для студентов направления 35.03.01 - Лесное дело

Нижегород
2015

Составитель: Мариничева Т.В.

УДК: 630*182.

Мариничева, Т.В. Физиология лесных растений. Учебно-методическое пособие по подготовке к лабораторным занятиям для студентов направления 35.03.01 - Лесное дело / Т.В.Мариничева. - Н.Новгород: НГСХА, 2015. – 24 с.

Учебно-методическое пособие предназначено для студентов направления 35.03.01 - Лесное дело изучающих дисциплину «Физиология лесных растений». В пособии изложены описание лабораторных заданий курса дисциплины. Даны списки основной и дополнительной литературы по курсу.

Печатается по решению редакционно-издательского совета Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии

Рецензент:

заведующий кафедрой лесных культур, д.с.-х.н., профессор В.П.Бессчетнов

© Мариничева Т.В., 2015

© Нижегородская государственная
сельскохозяйственная академия, 2015

Содержание

Введение	4
1. Физиология растительной клетки	5
1.1. Химический состав растительной клетки	5
1.2. Клетка как осмотическая система	7
2. Водный режим растений	9
3. Фотосинтез	10
4. Дыхание растений	12
5. минеральное питание растений	15
6. Устойчивость растений к неблагоприятным внешним воздействиям	16
7. Рост и развитие растений	18
Приложение	20
Библиографический список	24

ВВЕДЕНИЕ

Лабораторно-практические занятия по физиологии растений, играют значительную роль. На этих занятиях студенты знакомятся с методами физиологических исследований, приобретают навыки самостоятельной экспериментальной работы, учатся интерпретировать полученные ими данные, что способствует усвоению, осмыслению и закреплению теоретического материала.

Курс физиологии растений рассчитан на один семестр. Лабораторные работы проводятся в течение двух академических часов. После краткого объяснения преподавателя студенты рабочими группами по 2-3 человека, пользуясь учебно-методическим пособием, самостоятельно выполняют весь объем работ. На некоторых занятиях вся подгруппа выполняет одно и то же задание, но при этом каждая отдельная рабочая группа работает либо со своим объектом, либо изучает определенный фактор внешней среды. В этом случае по завершении опыта рабочие группы обмениваются результатами, анализируют их, делают общий вывод.

За время занятия каждый студент должен выполнить работу, произвести необходимые расчеты, оформить тетрадь и отчитаться перед преподавателем. В конце занятия проводится общее подведение итогов.

Каждая лабораторная работа должна быть оформлена: после названия работы дается краткое теоретическое обоснование выполняемой работы, указывается цель и объект исследований, краткое описание хода работы, результаты в виде расчетов, таблиц, рисунков, графиков и выводы. Записи в тетради должны быть четкими и ясными, так как впоследствии тетрадь необходима при подготовке к экзамену.

Бакалавр по направлению подготовки 35.03.01 – Лесное дело в соответствии с целями основной образовательной программы и задачами профессиональной деятельности, указанными в ФГОС ВПО по данному направлению, при изучении дисциплины «Физиология лесных растений» должен обладать следующими компетенциями: ОПК-5 обладанием базовыми знаниями систематики, анатомии, морфологии, физиологии и воспроизводства, географического распространения, закономерности онтогенеза и экологии представителей основных таксонов лесных растений, ПК-10 умением применять современные методы исследования лесных и урбо-экосистем.

Учебно-методическое пособие подготовлено на основе методических разработок с описанием лабораторных работ по физиологии растений Табаленковой Г.Н. и др.(2012 г.).

І. ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

1.1. Химический состав растительной клетки

Цель работы: изучение химического состава растений.

Задачи:

1. Изучить качественные реакции на белок.
2. Изучить качественные реакции на растворимые углеводы.
3. Определить содержание крахмала в различных растениях и их органах.
4. Определить содержание дубильных веществ.
5. Изучить реакцию на одревесневшую клеточную оболочку.

Работа 1. Качественные реакции на белок

Материалы и оборудование: 10 % раствор едкого натрия (гидроксид натрия); 1 % раствор сернокислой меди (медный купорос); азотная кислота концентрированная; 25 % раствор аммиака; раствор белка; пипетки с делением до 1 мл; воронки; штатив для пробирок; пробирки.

Присутствие белковых веществ может быть определено при помощи многих цветных реакций. Одни из них указывают на тип связи аминокислот в белке, другие - на присутствие в составе белковых веществ определенных аминокислот. Главнейшими из цветных реакций на белковые вещества являются следующие.

1. Биуретовая реакция. Биуретовая реакция обуславливается присутствием в молекуле пептидной группы $-CO-NH-$, входящей в состав биурета, откуда и произошло название самой реакции. Ее дают не только белки, но и полипептиды.

Ход работы. К исследуемому раствору белка (2-3 мл) приливают 1-2 мл 10 % раствора гидроксида натрия и несколько капель 1 % раствора медного купороса. В присутствии белковых веществ жидкость окрашивается в фиолетовый цвет. Не следует приливать избыток медного купороса, так как в этом случае фиолетовая окраска будет замаскирована синей.

2. Ксантопротеиновая реакция. Большинство белков при нагревании их с концентрированной азотной кислотой дает желтое окрашивание. Желтый - по-гречески «ксантос», откуда и произошло название ксантопротеиновой реакции. Эту реакцию дают все белки, содержащие циклические аминокислоты (фенилаланин, тирозин, триптофан). Химизм реакции сводится к нитрованию бензольного кольца с образованием нитросоединений желтого цвета. Этим же объясняется появление желтого окрашивания при попадании концентрированной азотной кислоты на кожу, шерсть и т. д.

Ход работы. К исследуемому раствору в пробирке приливают 1-2 мл концентрированной азотной кислоты. Проявление желтого осадка при нагревании указывает на присутствие белка. После прибавления к раствору избытка аммиака желтый цвет осадка переходит в оранжевый.

Работа 2. Качественные реакции на растворимые углеводы

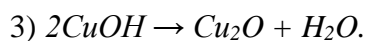
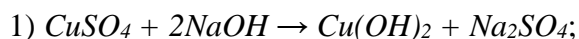
Материалы и оборудование: 10% раствор едкого натрия; 1% и 4% раствор сернокислой меди; 1 % раствор сахара; сегнетова соль (тарtrat калия-натрия); штатив с набором пробирок.

Присутствие сахаров легко обнаруживается некоторыми реакциями. Наиболее распространенными из них являются реакции: 1) Троммера, 2) Фелинга. Все указанные реакции основаны на способности моносахаридов и некоторых дисахаридов, имеющих свободные альдегидные группы, легко окисляться в присутствии различных окислителей.

1. Реакция Троммера. Окислителем является гидрат окиси меди, восстанавливающийся в присутствии редуцирующих сахаров до закиси меди.

Ход работы. К 2 мл исследуемого раствора приливают 1 мл 10 % раствора едкого натрия и по каплям 1 % раствор медного купороса до появления мути голубого цвета. Затем смесь в пробирке нагревают до кипения. Появление желтого (гидрат закиси меди) или

красного (закись меди) осадка указывает на присутствие в растворе сахара. При этом происходят следующие реакции:



2. Реакция Фелинга (медно-тарtratный реактив). Окислителем также является гидрат окиси меди. Эта реакция отличается от предыдущей тем, что к реагирующей смеси добавляется сегнетовая соль для связывания избытка гидрата окиси меди. Сегнетовая соль является двойной солью (Na и K) винной кислоты

Ход работы. Готовят реактив Фелинга непосредственно перед анализом: 0,2 г сегнетовой соли растворяют в 0,5 мл воды, 0,15 г едкого натрия растворяют в 0,3 мл воды; раствор щелочи осторожно приливают к раствору сегнетовой соли и доводят объем до 1 мл. В равных частях смешивают: 1 мл щелочного раствора сегнетовой соли и 1 мл 4% раствора медного купороса. К 2 мл исследуемого раствора сахарозы приливают 0,5 мл реактива Фелинга и нагревают до кипения. При этом появляется красный осадок закиси меди. При наличии в растворе небольшого количества сахара выпадает желтый осадок гидрата закиси меди.

Работа 3. Определение содержания крахмала в различных органах и видах растений

Материалы и оборудование: ступка; пестик; 1 % раствор йода в йодистом калии, картофель, морковь, капуста, репа, листья различных растений.

У растений крахмал служит главным запасным веществом. Присутствие крахмала легко обнаруживается раствором йода.

Для приготовления 1% раствора: берем 2 г йодистого калия, растворяем в 10 мл воды, затем прибавляем 1 г кристаллического йода и после растворения последнего объем раствора доводим до 100 мл.

Ход работы. Исследуемый материал, растереть в ступке, прилить несколько капель раствора йода в йодистом калии. При этом жидкость окрашивается в синий цвет. Оценить в баллах содержание крахмала в опытных образцах.

Работа 4. Определение дубильных веществ

Цель работа: Определить наличие дубильных веществ в представленных объектах.

Материалы и оборудование: 1 % раствора хлорного железа, растительный материал.

Дубильные вещества в большом количестве обнаружены у двудольных растений, у однодольных они отсутствуют. Содержатся в коре ели, сосны, ивы, дуба и других растений. Цвет, аромат и вкус чая в основном связаны с комплексом дубильных веществ чайного листа. Полагают, что дубильные вещества защищают растения от проникновения в них болезнетворных микроорганизмов.

Объекты: Листья древесных растений (сухие или сырые), кора древесных пород.

Ход работы

а) Из сочных частей растений выжимают 1-2 капли сока на предметное стекло и наносят 1 каплю 1 % раствора хлорного железа. Появление зеленого и черного окрашивания свидетельствует о наличии дубильных веществ.

б) В пробирку помещают кусочки древесной коры, добавляют воды (все содержимое занимает 1/2 объема пробирки) и кипятят. После непродолжительного кипячения сливают экстракт в сухую пробирку и добавляют 1-3 капли 1 % раствора хлорного железа. Содержимое пробирки окрашивается в зелено-черный цвет, что свидетельствует о наличии дубильных веществ.

Сравнить содержание дубильных веществ в разных растениях.

Работа 5. Одревеснение и опробковение оболочек растительных клеток

Материалы и оборудование: предметные и покровные стекла, микроскоп, срезы растительной ткани, куски древесины лиственных пород, 2 % раствор марганцовокислого калия (50 мл), 50 % соляная кислота (50 мл), 25 % аммиака (0,5 мл).

На заключительном этапе роста клетки, т. е. в период ее старения, целлюлозная клеточная оболочка инкрустируется лигнином. Этот процесс повышает прочность клеточной оболочки на сжатие и растяжение. Оболочки клеток древесины содержат 20-30 % лигнина.

Ход работы. Срезы растительной ткани помещают в сосуд с 2 % раствором марганцовокислого калия на 2-3 мин. По истечении времени извлекают срезы и промывают 50 % соляной кислотой 1-2 мин, затем обсушивают и помещают в каплю 25 % аммиака на предметном стекле. Накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. Одревесневшая оболочка клетки окрашивается в красный цвет.

Эту же работу можно провести с кусками древесины лиственных пород. На поверхность среза наносят 5-6 капель 10 % раствора марганцовокислого калия. Через минуту удаляют их фильтровальной бумагой и высушенные места смачивают 2-3 каплями концентрированной соляной кислотой. По истечении 2-х минут удаляют фильтрованной бумагой кислоту и наносят 2-3 капли 25 % раствора аммиака. Появляется красная окраска. Красное окрашивание обычно дает древесина лиственных пород, а у хвойных эта реакция отсутствует (у хвойных возможна лишь бледно-коричневая окраска).

Если сопоставить двудольные растения и однодольные, то красное окрашивание одревесневших клеточных оболочек характерно для двудольных; однодольные дают бурую окраску.

1.2. Клетка как осмотическая система

Растительная клетка представляет собой осмотическую систему. Пектиноцеллюлозная оболочка хорошо проницаема как для воды, так и для растворенных веществ. Однако плазмалемма и тонопласт обладают полупроницаемостью - способностью пропускать воду, газ и растворенные в воде вещества с разной скоростью.

Цель работы: исследовать осмотические свойства растительных клеток.

Задачи:

1. Пронаблюдать явления плазмолиза и деплазмолиза.
2. Дать характеристику проницаемости живой и мертвой цитоплазмы.
3. Установить избирательную проницаемость плазмалеммы для ионов, оценить влияние возраста листа и действие химических соединений на вязкость цитоплазмы.

Работа 6. Проницаемость живой и мертвой цитоплазмы для веществ клеточного сока (вакуоли)

Материалы и оборудование: корнеплод красной свеклы; 30 % уксусная кислота (10 мл); хлороформ в капельнице (с притертой пипеткой) (0,25 мл); тарелка; фарфоровая чашка; скальпель; пинцет; штатив с пробиркой (4 шт.); стакан химический; держалка для пробирок; спиртовка; спички.

Ход работы. Вырезать из очищенного корнеплода красной свеклы четыре одинаковых брусочка длиной около 2 см и шириной 1 см (корнеплод должен быть свежим, т.е. иметь хороший тургор, так как с подвявшим опытом не дает четких результатов). Положить брусочки в фарфоровую чашку и многократно промыть водопроводной водой до тех пор, пока не прекратится выделение окрашенного сока из перерезанных клеток, поместить брусочки в 4

пробирки и налить в две пробирки воду (до 1/2 объема), в третью - воду и 5 капель хлороформа, в четвертую - 30 % уксусную кислоту. Одну из пробирок с водой прокипятить в течение 1-2 мин, слить жидкость и залить брусочек холодной водой.

Наблюдать в течение 1-2 ч за изменением окраски жидкости в пробирках, время от времени взбалтывая их содержимое. Результаты записать в форме таблицы.

Вариант опыта	Окрашивание жидкости,
Вода комнатной температуры Кипячение Вода + хлороформ 30 % уксусная кислота	

Работа 7. Явление плазмолиза и деплазмолиза

Материалы и оборудование: луковица синего лука или листья традесканции; 1 М раствор сахарозы в капельнице (для 20% раствора объемом 23,13 мл потребуется 5 г сахарозы); лезвие бритвы; скальпель; пинцет; препаровальная игла; микроскоп; предметные и покровные стекла; стакан с водой; стеклянная палочка; фильтровальная бумага; спиртовка; спички.

Ход работы. Срезать бритвой кусочек эпидермиса, клетки которого содержат антоциан. Во избежание повреждения клеток эпидермиса желательно, чтобы срез состоял из двух слоев клеток.

Поместить срез в каплю воды на предметное стекло, накрыть покровным стеклом и рассмотреть в микроскоп клетки с окрашенным клеточным соком. Заменить воду 1 М раствором сахарозы, для чего на предметное стекло рядом с покровным нанести большую каплю раствора и отсосать воду кусочком фильтрованной бумаги, прикладывая ее с другой стороны покровного стекла. Повторить этот прием 2-3 раза до полной замены воды раствором. Все время следить в микроскоп за тем, что происходит в клетках.

Сделать схематические рисунки клеток в состоянии тургора, уголкового, вогнутого и выпуклого плазмолиза, обозначив основные составные части клеток.

Ввести под покровное стекло 2-3 капли воды, отсасывая раствор фильтрованной бумагой, и немедленно приступить к наблюдению деплазмолиза клеток (обратите внимание на скорость этого процесса по сравнению с плазмолизом).

После окончания деплазмолиза убить клетки, держа край предметного стекла пинцетом и осторожно нагревая препарат на пламени спиртовки, не допуская испарения воды. Заменить воду на 1 М раствора сахарозы и, рассматривая препарат в микроскоп, установить, происходит ли плазмолиз.

Работа 11. Прижизненное окрашивание клеток нейтральным красным

Материалы и оборудование: луковица белого лука, листья разных растений; 0,02 % раствор нейтрального красного в капельнице; 1 М раствор KNO_3 (нитрат калия, калийная селитра) (3,16 г на 10 г воды) в капельнице; скальпель; лезвие бритвы; препаровальная игла; микроскоп; предметные и покровные стекла; стеклянная палочка; стакан с водой; кусочки фильтрованной бумаги; цветные карандаши.

Подобно метиленовой синей краске нейтральный красный способен проникать в живые клетки и накапливаться в них в больших количествах. При непродолжительном пребывании клеток в растворе нейтрального красного цитоплазма не отмирает, в чем можно убедиться, вызвав плазмолиз окрашенных клеток (плазмолизироваться могут только живые клетки). Нейтральный красный - двухцветный индикатор: в кислой среде ($pH < 6$) он имеет малиновую окраску, в щелочной - желтую.

Для понимания результатов данной работы необходимо иметь в виду, что в растворе с pH около 7 нейтральный красный находится в форме недиссоциированных молекул, хорошо

растворимых в липидах мембран, тогда как в кислой среде ($pH < 6$) это вещество диссоциирует на ионы, плохо растворимые в липидах.

Ход работы. Приготовить 2-3 среза эпидермиса чешуи обыкновенного лука или листьев каких-либо других растений и поместить их на предметное стекло в большую каплю раствора нейтрального красителя, не накрывая покровным стеклом (при хорошем доступе воздуха окрашивание происходит быстрее). Через 10-15 мин (не более) отсосать раствор краски фильтрованной бумагой, перенести срезы в каплю воды, накрыть покровным стеклом и рассмотреть в микроскоп. Заменить воду 1 М раствором KNO_3 и продолжать наблюдение при большом увеличении.

Зарисовать плазмоллизированную клетку, отметив, какая часть окрашена красителем (клеточная стенка, цитоплазма или вакуоль) и в какой цвет (раскрасить цветным карандашом).

II. ВОДНЫЙ РЕЖИМ РАСТЕНИЙ

Вода - главный компонент активных растительных клеток. На ее долю приходится до 90 % сырой массы. В покоящихся семенах ее значительно меньше: 15-20 % общего веса. Роль воды в жизни растений проявляется во всех аспектах их жизнедеятельности. Вода является и средой, и непосредственным участником большинства биохимических реакций. Вода служит компонентом структуры протоплазмы.

Цель работы: определение интенсивности транспирации и степени открытия устьиц в зависимости от вида растений и условий произрастания.

Задачи:

1. Освоить метод определения интенсивности транспирации листьев при помощи торсионных весов.
2. Сравнить интенсивность транспирации листьев растений разных экологических групп.
3. Дать характеристику состояния устьиц в зависимости от условий произрастания растений.

Работа 13. Определение интенсивности транспирации листьев

Материалы и оборудование: торсионные весы; секундомер; ножницы; люксметр; миллиметровая бумага; стаканы; предметные и покровные стекла; линейка; листья светлюбивых растений (подорожник большой, одуванчик лекарственный, мать-и-мачеха, берега, осина, культурные растения); листья тенелюбивых растений (кислица, вороний глаз, майник двулистный, папоротник лесной, пихта, ель).

Ход работы

1. Установить торсионные весы строго горизонтально по уровню при помощи двух винтов в подставке весов и проверить нулевую точку их шкалы.
2. С опытного растения срезать лист и быстро взвесить. Определить исходную массу листа W_1 (мг).
3. Через 15 мин повторить взвешивание - W_2 (мг). Вычислить массу испарившейся воды в граммах $W_1 - W_2$. Разность отсчетов дает представление о количестве испаренной воды в процессе транспирации. Записать время продолжительности эксперимента t (ч).
4. Определить листовую поверхность (S): на миллиметровой бумаге обрисовать лист и подсчитать площадь, которую он занимает ($дм^2$) с точностью до 0,01 $дм^2$.
5. Рассчитать интенсивность транспирации по формуле:

$$ИТ \left(\frac{мг \text{ воды}}{дм^2 \cdot ч} \right) = \frac{W_1 - W_2}{S \cdot t},$$

где W_1 - первоначальная масса листа, мг; W_2 - масса листа после экспозиции, мг; S - площадь листа, $дм^2$; t - время экспозиции, ч.

Результаты измерений и расчетов записать в таблицу.

Интенсивность транспирации разных видов растений

Вид растения, вариант опыта	Масса листа, мг			Интервал времени, t , ч	Площадь листа, S , дм	Интенсивность транспирации, ИТ, мг воды/(дм ² · ч)
	W_1	W_2	$W_1 - W_2$			

6. Сравнить ход транспирации у листьев разных видов растений и объяснить наблюдаемые различия.

Работа 14. Анатомические особенности листьев светолюбивых и тенелюбивых растений

Материалы и оборудование: микроскоп; окуляр-микрометр; предметные и покровные стекла; стеклянные трубочки; ножницы; пинцет; препаровальные иглы; стакан с водой; бритва; листья светолюбивых и тенелюбивых растений.

Анатомо-морфологические характеристики сильно зависят от светового режима в местах обитания растений. Тенелюбивые растения, как правило, отличаются более крупными и тонкими листовыми пластинками. Мезофилл слабо дифференцирован на палисадную и губчатую паренхиму, имеет рыхлое строение. Клетки мезофилла крупные. Крупные устьица чаще расположены на нижней стороне листьев.

У светолюбивых растений листовые пластинки толще, имеют блестящую поверхность, толстую кутикулу, густое опушение или восковой налет. Внутреннее строение листа светолюбивых растений имеет следующие особенности: развитая палисадная ткань, состоящая из 2-3 рядов узких длинных клеток; клетки губчатой ткани мелкие, расположены компактно; устьица мелкие и многочисленные.

Ход работы. Отбирают с 10-15 экземпляров каждого вида по 10 листьев среднего яруса. Помещают между листьями влажной бумаги или в чашки Петри. В лаборатории получают поперечные срезы листовых пластинок, снимают кусочки эпидермиса. Готовят препараты. При помощи микроскопа и окуляр-микрометра определяют толщину листовых пластинок, размеры устьиц и их число.

III. ФОТОСИНТЕЗ

Фотосинтез является процессом преобразования электромагнитной энергии света в потенциальную энергию химических связей, которая используется для образования органических веществ (углеводов, белков, жиров).

Цель работы: рассмотреть вопросы CO_2 -газообмена растений, познакомиться с методами выделения и физико-химическими свойствами пигментов.

Задачи:

1. Изучить способы выделения пигментов из растений.
2. Определить химические свойства пигментов.
3. Разделить пигментный комплекс растений с помощью метода хроматографии.
4. Определить фотосинтезирующую роль хлорофиллов.

Работа 15. Пигменты зеленого листа

Материалы и оборудование: свежие или сухие листья растений; этиловый спирт; бензин; петролейный эфир; 20 % раствор КОН в капельнице; 10 % HCl (соляная кислота) в капельнице; карбонат кальция (кальций углекислый, CaCO_3); уксуснокислый цинк; кварцевый песок; ступка с пестиком; воронка; стеклянная палочка; штатив с пробирками (5 шт.); стакан с водой; пипетка; ножницы; скальпель; спиртовка; держалка для пробирок; вазелин; бумажный фильтр; спички; цветные карандаши.

Основными пигментами зеленого листа являются: хлорофилл *a*, хлорофилл *b* и каротиноиды. Благодаря зеленым пигментам возможен автотрофный синтез органического вещества и аккумуляция в нем солнечной энергии.

Ход работы. Свежие или сушеные листья измельчить, отбросить крупные жилки и черешки, поместить в ступку, добавить на кончике ножа CaCO_3 (2 г) (для нейтрализации кислот клеточного сока) и немного чистого кварцевого песка.

Тщательно растереть, приливая понемногу этиловый спирт, смазать носик ступки с наружной стороны вазелином и слить полученный темно-зеленый раствор по палочке в воронку с фильтром.

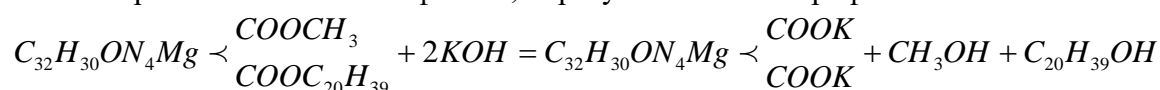
Налить полученную вытяжку по 2-3 мл в четыре пробирки и провести следующие опыты.

1. Разделение пигментов по Краусу. Добавить к спиртовой вытяжке пигментов несколько больший объем бензина или петролейного эфира и 2-3 капли воды (что бы спирт не смешивался с бензином). Закрывать пробирку пробкой, несколько раз сильно встряхнуть и дать отстояться. Если разделение пигментов будет недостаточно четким (оба слоя окрашены в зеленый цвет), то необходимо прилить еще бензина и продолжать взбалтывание. Помутнение нижнего слоя (от избытка воды) можно устранить, добавляя немного спирта. Отметить окраску нижнего спиртового слоя и верхнего бензинового (сделать рисунок).

Сделать выводы о различной растворимости пигментов в спирте и бензине. Следует учесть, что ксантофилл, будучи двухосновным спиртом, почти не растворим в бензине. В отношении каротина правильный вывод можно будет сделать, сопоставив результаты данного опыта и следующего.

2. Омыление хлорофилла щелочью. К 2-3 мл спиртовой вытяжки пигментов добавить 4-5 капель 20 % раствора щелочи и взболтать. Прилить в пробирку равный объем бензина, сильно встряхнуть и дать отстояться. Отметить окраску спиртового и бензинового слоев. Результаты опыта зарисовать.

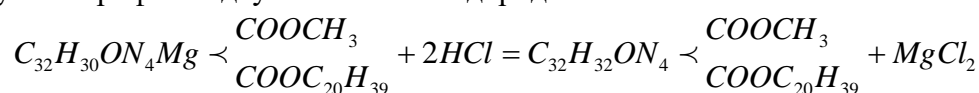
В выводах записать реакцию омыления хлорофилла, в результате которой происходит отщепление спиртов - метилового и фитола, образуются соли хлорофиллинов:



Соли хлорофиллинов имеют зеленую окраску, но отличаются от хлорофилла нерастворимостью в бензине.

Указать, какие вещества растворены в спирте, какие в бензине, имея в виду, что желтые пигменты со щелочью не реагируют.

3. Получение феофитина и восстановление металлоорганической связи. Взять две пробирки со спиртовой вытяжкой пигментов и добавить в них по 2-3 капли 10 % соляной кислоты. Получается буровато-оливковое вещество феофитин - продукт замещения магния в молекуле хлорофилла двумя атомами водорода:



В одну из пробирок с феофитином внести на кончике ножа немного уксуснокислого цинка и довести раствор до кипения. Если окраска не измениться, добавить еще уксуснокислого цинка и продолжать нагревание. Отметить изменение окраски благодаря восстановлению металлоорганической связи (атом цинка замещает магний). Написать уравнение реакции.

Работа 16. Определение фотосенсибилизирующего действия хлорофилла

Материалы и оборудование: свежие листья растений; 4 пробирки; раствор метилового красного; аскорбиновая кислота; этиловый спирт; лампа накаливания.

В световой фазе фотосинтеза осуществляется процесс окисления воды. Освобожденные при этом электроны передаются на НАДФ. Часть энергии электронов идет

на образование АТФ. В переносе электронов к НАДФ участвуют пигменты системы, содержащие различные формы хлорофилла *a*. Кроме того, в пигментные системы входят хлорофилл *b* и каротиноиды. В световую фазу фотосинтеза хлорофилл выполняет роль фотосенсибилизатора.

Фотосенсибилизаторную роль хлорофилла можно показать опытным путем в пробирке. Для этого в качестве донора водорода берут аскорбиновую кислоту, а акцептора водорода - метиловый красный.

Ход работы. Берут 4 пробирки и вносят:

1) 5 мл спиртовой вытяжки хлорофилла + 50 мг аскорбиновой кислоты + 10 капель раствора метилового красного, затем помещают в темное место.

2) 5 мл спиртовой вытяжки хлорофилла + 50 мг аскорбиновой кислоты + 10 капель раствора метилового красного, освещают лампой накаливания.

3) 5 мл спиртовой вытяжки хлорофилла + 10 капель раствора метилового красного, освещают лампой накаливания.

4) 5 мл этилового спирта + 50 мг аскорбиновой кислоты + 10 капель раствора метилового красного, освещают лампой накаливания.

Раствор метилового красного вносят каплями до тех пор, пока зеленая окраска в пробирках не исчезнет и содержимое пробирок не окрасится в коричнево-красный цвет. Через 20-25 минут наблюдают результаты опыта. Содержимое второй пробирки вновь приобретает зеленую окраску, а в остальных пробирках раствор остается коричнево-красным.

Объяснение. Хлорофилл во второй пробирке под действием света осуществляет фотосенсибилизированный перенос водорода от аскорбиновой кислоты к метилому красному. При этом метиловый красный необратимо восстанавливается в бесцветную форму. Поэтому раствор во второй пробирке вновь приобретает зеленую окраску - окраску хлорофилла.

Первая пробирка находилась в темном месте, т. е. в отсутствие света; в третьей пробирке нет аскорбиновой кислоты (донора водорода); в четвертой пробирке нет хлорофилла (фотосенсибилизатора). Поэтому окраска растворов этих пробирок остается красноватой, т. е. метиловый красный не восстанавливался.

IV. ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ

Дыхание стоит в центре обмена веществ в организме. Этот процесс через свои промежуточные соединения связывает между собой белковый, углеводный, жировой и другие обмены. Дыхание это аэробное окисление органических субстратов до диоксида углерода и воды. Субстратами окисления в клетке являются в основном углеводы, но ими могут быть также липиды и белки.

Цель работы: познакомиться с методами определения скорости дыхания, показать роль ферментов в дыхательном процессе и их зависимость от физиологического состояния растений.

Задачи:

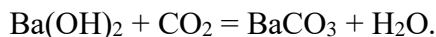
1. Освоить метод определения дыхания по выделению CO_2 .
2. Сравнить интенсивность дыхания у разных органов растений и дать оценку влияния температуры на интенсивность дыхания.
3. Определить активность ферментов дыхания (каталаза, пероксидаза, дегидрогеназы) в различных растениях.
4. Показать наличие оксидаз в растительной ткани.

Работа 17. Определение интенсивности дыхания по количеству выделенного диоксида углерода

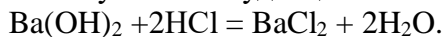
Материалы и оборудование: проросшие и непроросшие семена, почки, листья, стебли, цветки и другой растительный материал; 0,025 н раствор $\text{Ba}(\text{OH})_2$ (для приготовления

20 мл раствора потребуется 0,086 г Ва(ОН)₂; 0,025 н НСl (для 100 мл раствора потребуется 0,091 г НСl); фенолфталеин в капельнице; технические весы; конические колбы на 250-300 мл с резиновыми пробками, в которые вставлены металлические крючки; куски марли 10×10 см; стакан с водой.

Интенсивность дыхания определяют по количеству выделенного СО₂ в расчете на 1 г сырой массы растительного материала в час. Опыт проводится в замкнутом объеме воздуха. В колбу помещают навеску, исследуемого материала и 10 мл раствора Ва(ОН)₂. Выделяемый в процессе дыхания диоксид углерода реагирует со щелочью, в результате чего концентрация раствора уменьшается:



Через определенное время оставшуюся в сосуде щелочь титруют:



Сравнивают полученную величину с результатом титрования такого же количества исходного раствора щелочи. Последнее необходимо для определения исходной концентрации щелочи и одновременно для учета того небольшого количества СО₂, которое содержалось в сосуде до опыта, а также поглощаемого щелочью во время открывания сосуда. Разность между результатами титрования содержимого контрольного и опытного сосудов прямо пропорциональна количеству выделенного при дыхании СО₂.

Продолжительность экспозиции зависит от размера навески и от интенсивности дыхания исследуемого объекта. При очень короткой экспозиции разность между результатами титрования контрольной и опытной колб будет недостоверной. Наоборот, если в колбе останется слишком мало барита, то может произойти неполное поглощение СО₂.

Ход работы

1. Поместить навеску исследуемого материала (5-10 г) в марлевый мешочек, прикрепить к крючку.

2. Провести пробную сборку установки, проверив, свободно ли проходит мешочек с материалом через горло колбы и не опускается ли он слишком низко.

3. Внести в колбу 2-3 капли фенолфталеина и налить 10 мл раствора Ва(ОН)₂. Быстро опустить в колбу мешочек с материалом, прикрепленным на крючок и плотно закрыть. Записать время начала экспозиции.

4. В контрольную (пустую) колбу также налить 10 мл барита и 2-3 капли фенолфталеина и плотно закрыть пробкой. Колбы с объектами, содержащими хлорофилл, необходимо на все время опыта поместить в темноту для исключения процесса фотосинтеза.

5. Время от времени колбы следует осторожно покачивать, чтобы разрушить пленку ВаСО₃, препятствующую полноте поглощения СО₂, не допуская попадания ни одной капли раствора на мешочек с материалом.

6. Через 1-2 ч вынуть материал, быстро закрыть колбу пробкой и отметить время окончания опыта. Оттитровать оставшуюся щелочь НСl до исчезновения розового оттенка.

7. Контрольную колбу можно титровать через 20 мин после того, как налит раствор барита (за это время колбу необходимо периодически взбалтывать). Результаты записать в форме таблицы.

Объект	Навеска, г	Объем Ва(ОН) ₂ , мл	Время			Расходы НСl, мл		Интенсивность дыхания, мг/(г · ч)
			начало	конец	экспозиция, ч	контроль	опыт	

Интенсивность дыхания вычисляют по формуле

$$I_d = (a-b) \cdot K \cdot 0,55 / (p \cdot t),$$

где *a* - результат титрования содержимого контрольной колбы; *b* - результат титрования содержимого опытной колбы; *K* - поправка к титру НСl; 0,55 - количество мг СО₂, эквивалентное 1 мл 0,025 н НСl; *p* - навеска, г; *t* - экспозиция, ч.

Сделать вывод, сопоставить интенсивность дыхания разных объектов.

Работа 18. Определение активности дегидрогеназ в семенах

Материалы и оборудование: конические колбы (2 шт.); пробирки; набухшие семена гороха; метиленовый синий (концентрация 1,5 мг на 30 мл воды); подсолнечное масло.

Ход работы. Набухшие семена гороха освобождают от кожуры и помещают в две колбы (А и Б) по 10 семян в каждую.

В колбу А добавляют 20 мл воды, кипятят 5-10 мин и сливают воду.

В колбы А и Б добавляют по 15 мл раствора метиленовой синей. Семена выдерживают в этом растворе 10-15 мин. По истечении времени раствор из колбы сливают и промывают семена водой. После промывки семена остаются окрашенными в синий цвет.

Окрашенные семена переносят в пробирки и вновь заливают их водой. Для создания анаэробных условий, в пробирки вносят несколько капель подсолнечного масла. Слой масла на поверхности воды препятствует доступу кислорода воздуха к семенам.

Пробирки помещают в стакан с водой, температуру которой поддерживают в пределах 35-40 °С.

Наблюдая за пробирками, отмечают, что семена из колбы Б постепенно теряют синюю окраску, а семена из колбы А остаются окрашенными. Когда большая часть семян из колбы Б обесцветится, выливают воду из пробирок и вытряхивают семена в сухие стаканы. Через некоторое время семена из колбы Б вновь приобретают синюю окраску, а семена из колбы А остаются без изменений.

Объяснение. В клетках набухших семян первичные дегидрогеназы с участием коферментов (например, НАД) отнимают водород от окисляемого субстрата и передают флавиновым дегидрогеназам, например, дегидрогеназам, содержащим кофермент ФАД. При этом ФАД переходит в ФАД · Н₂ форму. В пробирках в отсутствие О₂ воздуха в клетках семян ФАД · Н₂ передает водород метиленовой сини. Метиленовая синь в окисленной форме имеет синюю окраску, а в восстановленной - бесцветная. Метиленовая синь, принимая водород, восстанавливается и теряет синюю окраску, что видно на семенах из колбы Б. Когда обесцвеченные семена переносят в сухие стаканы, водород от метилового сини передается О₂ воздуха, метиленовая синь вновь окисляется, приобретая синюю окраску.

Семена из колбы А остаются окрашенными потому, что их клетки были убиты кипячением.

Работа 19. Определение активности каталазы

Материалы и оборудование: проросшие семена; элодея; 3 % раствор Н₂О₂.

В процессе дыхания в растительных клетках образуется Н₂О₂. Фермент каталаза функционирует независимо от пероксидазы.

Роль каталазы в растениях разнообразна. Она не только обезвреживает Н₂О₂, но и снабжает кислородом клетки многослойной паренхимы органов растений, если доступ О₂ воздуха к этим клеткам затруднен.

Ход работы. В пробирку с проросшими семенами добавляют 5 мл 3 % раствора Н₂О₂. Через некоторое время наблюдают выделение пузырьков газа. Аналогичный опыт ставят с семенами, предварительно убитыми кипячением. В этом случае пузырьки газа не выделяются.

На предметное стекло помещают лист элодеи, наносят на лист 3-4 капли 3 % раствора Н₂О₂ и наблюдают препарат под микроскопом. Аналогично опыт проводят с листом предварительно убитым кипячением.

В живых клетках семян или листа элодеи наблюдают интенсивное выделение пузырьков газа. Это объясняется тем, что каталаза живых клеток разлагает искусственно внесенную перекись водорода с выделением пузырьков газа (молекулярного кислорода).

V. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ

Для питания растений необходимы определенные минеральные элементы. У высших растений в поглощении минеральных веществ из почвы или окружающей воды участвуют корни. Максимальное поглощение происходит в зоне корневых волосков.

Цель работы: познакомиться с методами определения минерального состава растений; оценить влияние внешних факторов на минеральный состав растений.

Задачи:

1. Определить минеральный состав золы различных растений.
2. Определить содержание нитратов в различных видах растений.
3. Оценить влияние минеральных элементов на рост растений.

Работа 20. Микрохимический анализ золы

Материалы и оборудование: зола растений; пробирки; 10 % HCl; 1 % раствор молибденовокислого аммония в 1 % азотной кислоте; 10 % раствор аммиака; 1 % раствор фосфорнокислого натрия; 1 % раствор уксуснокислого свинца; 1 % раствор желтой кровяной соли.

Ход работы. В пробирку (одну десятую ее объема) вносят золу растений и приливают примерно до половины пробирки раствор 10 % HCl. Смесь перемешивают стеклянной палочкой в течение минуты и отфильтровывают в чистую пробирку. Фильтр используют для определения фосфора, кальция, магния, серы и железа. При подготовке к микрохимическому анализу следует особое внимание обратить на чистоту химической посуды, предметных стекол и другого оборудования. Одним и тем же предметным стеклом или пипеткой нельзя пользоваться при определении различных элементов.

Обнаружение фосфора. На предметное стекло наносят каплю фильтрата и рядом с ней на расстоянии 1 см такое же количество 1 % раствора молибденовокислого аммония в 1 % азотной кислоте. При помощи стеклянной палочки соединяют два раствора и рассматривают под микроскопом краевую зону соединительных капель. В поле зрения видны зеленовато-желтые кристаллы фосфорномолибденовокислого аммония.

Обнаружение кальция. Ход работы аналогичен обнаружению фосфора. Реактивом на кальций служит 1 % раствор серной кислоты. В результате реакции выпадают игольчатые кристаллы гипса. Их рассматривают под микроскопом.

Обнаружение магния. На предметное стекло наносят каплю фильтрата и смешивают ее с каплей 10 % раствора аммиака, т. е. фильтрат нейтрализуют аммиаком. Затем нейтрализованный фильтрат соединяют с каплей 1 % раствора фосфорнокислого натрия. В процессе реакции выпадают кристаллы фосфорно-аммиачно-магнезиевой соли в виде квадратов, прямоугольников, крыльев. В работе пользуются микроскопом.

Обнаружение серы. Ход работы аналогичен определению фосфора. Реактивом на серу служит 1 % раствор уксуснокислого свинца. В процессе реакции выпадают кристаллы сернокислого свинца в виде игл, ромбов и звезд. Для обнаружения кристаллов пользуются микроскопом.

Обнаружение железа. Каплю фильтрата смешивают на предметном стекле с каплей 1 % раствора желтой кровяной соли. Выпадает осадок синего цвета (берлинская лазурь).

Работа 21. Влияние элементов минерального питания на рост растений

Материалы и оборудование: семена ячменя, ржи, гороха, пелюшки; раствор Кнопа; растворы с исключением азота, фосфора, калия.

Ход работы. В чашки Петри поместить по кружку фильтровальной бумаги, разложить семена (10-15 шт.) и добавить 15 мл раствора минеральных веществ согласно вариантам опыта. Результаты записать в форме таблицы. (раствор Кнопа описан на 59 стр. в книге 1960г "Выращивание растений без почвы" (В.А. Чесноков, Е.Н. Базырина) Элементы/Количество элементов (в г) на 1000л воды/Соотношение: Азот N нитратный NO₃/154/1, аммонийный NH₄/0/0, Фосфор P/56/0,3, Калий K/167/1, Кальций Ca/170/1, Магний Mg/24/0,1; Количество

солей (в г) на 1000 л воды: Калий азотнокислый – 250, Калий фосфорнокислый (однозамещенный) – 250, Кальций азотнокислый – 1000, Магний сернокислый – 250, Всего – 1750). Для варианта опыта достаточно взять 0,1 л воды и соответственно веществ (г): калий азотнокислый – 0,025, калий фосфорнокислый – 0,025, кальций азотнокислый – 0,1, магний сернокислый – 0,025.

Влияние минерального питания на рост растений

№ п/п	Вариант	Количество растений, шт.	Длина корней, см	Высота растений, см	Сырая масса растений, г	Масса растения, г
Рожь						
1	раствор Кнопа					
2	- без фосфора					
3	- без калия					
4	- без азота					
Пелюшка						
5	раствор Кнопа					
6	- без фосфора					
7	- без калия					
8	- без азота					

Через 10 дней в каждом варианте подсчитать количество растений, измерить длину корней, высоту coleoptилей, сырую массу растений. Рассчитать среднюю длину корней, высоту coleoptилей и массу 1 растения и сделать вывод о влиянии минерального питания на рост растений.

VI. УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ВНЕШНИМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Обязательным свойством любого организма является способность к защите от неблагоприятных факторов среды. Выживаемость и расселение по новым экологическим нишам определялось способностью организмов приспосабливаться к постоянно меняющимся условиям существования.

Цель работы: оценить влияние внешних факторов и антропогенного воздействия на рост растений и активность ферментов.

Задачи:

1. Определить зимостойкость древесных растений.
2. Оценить влияние тяжелых металлов (Cu, Zn, Ca) на рост и активность пероксидаз растений зерновых культур.

Работа 22. Определение зимостойкости древесных растений

Материалы и оборудование: почки древесных растений разной зимостойкости (осина, ясень зеленый); микроскопы; предметные и покровные стекла; пинцеты; препаровальные иглы; бритва; раствор Люголя; спиртовой раствор альфа-нафтола оранжевого; концентрированная H₂SO₄; раствор (спиртовой) Судана III; этиловый спирт; 1 М раствор сахарозы; раствор роданистого калия (0,97 г в 10 мл дистиллированной воды); глицерин.

Ход работы

1. **Реакция на крахмал.** Тонкие срезы почек древесных растений поместить в раствор Люголя на часовом стекле на 5 мин. Рассмотреть срез под микроскопом. При наличии крахмала появляется сине-фиолетовая или черная окраска. Если окраска интенсивно черная,

раствор Люголя следует разбавить. Содержание крахмала оценивают в баллах по 4- или 5-балльной системе. Необходимо учитывать окраску не одной клетки, а среднюю окраску в нескольких полях зрения на 3-4 срезах. (раствор Люголя готовится из 5 частей йода, 10 частей йодида калия и 85 частей воды. Общее содержание йода в этом растворе составляет 130 г/л. Используют также раствор Люголя с глицерином).

2. Реакция на сахара. Тонкие срезы почек древесных растений окрашивают на предметном стекле раствором альфа-нафтола. (Приготовление раствора: в литровую круглодонную колбу помещают холодный раствор 1,44 г (1 мол.) альфа-нафтола с 2 мл 95%-ного спирта. Обычно для растворения альфа-нафтола спирт приходится нагревать.) Добавить 1-2 капли концентрированной серной кислоты. Сахара окрашиваются в цвета от розового до темно-малинового. Оценить количество сахаров в баллах.

3. Реакция на жиры и липиды. (Приготовление раствора красителя. В 100 мл горячего 70% спирта засыпают 0,2-0,3 г порошка Судана III, несколько раз взбалтывают и ставят в термостат (при 58°C) на несколько часов, затем охлаждают и фильтруют.) Тонкие срезы почек помещают на 5 мин в раствор Судана III, затем переносят на предметное стекло в раствор глицерина (применяют в основном 86-90%-ные водные растворы глицерина) и рассматривают в микроскоп. Жиры окрашиваются в ярко-красный или оранжевый цвет. Провести оценку содержания жиров в баллах. Окраску срезов раствором Судана III следует проводить в бюксе с закрытой крышкой. В противном случае спирт испаряется, и из насыщенного раствора Судан III выпадает в виде осадка, который остается в препарате.

4. Характер плазмолиза клеток. О покое можно судить по форме плазмолиза в 1 М растворе сахарозы. Срезы почек помещают на часовом стекле в каплю сахарозы и оставляют на 5 мин, затем рассматривают под микроскопом. В вегетирующих клетках появляется вогнутый плазмолиз, а в покоящихся - выпуклый. Результаты записать в форме таблицы.

Вид растения	Содержание, баллы			Характер плазмолиза	Время наступления колпачкового плазмолиза
	крахмала	сахаров	жиров		

Оценить глубину покоя и морозоустойчивость видов, описать характер изменений у разных по морозоустойчивости видов при переходе от глубокого покоя к вынужденному покою.

Работа 23. Влияние температуры на активность пероксидаз

Материалы и оборудование: проросшие семена пшеницы, почки сирени, клубни картофеля; 0,4 % H₂O₂; 1 % раствор аскорбиновой кислоты; 0,02 М раствор пирокатехина; 10 % фосфорная кислота; 1 % раствор крахмала; 0,01 н раствор йода в йодистом калии; ступки, пестики; бюретки для титрования; стаканы на 100 мл с меткой, пипетки.

Ход работы

1. Подготовить растительный материал, предварительно выдержав его в течение суток при температурах 5 и 30 °С.

2. Взять навеску (1 г) сырого растительного материала, растереть в ступке с 20 мл воды. Растертую массу полностью перенести в мерный стакан, довести водой до 50 мл, через 20 мин профильтровать.

3. Определение пероксидаз.

Опытная проба: к 1 мл фильтрата прилить 1 мл 0,4 % H₂O₂ + 2 мл аскорбиновой кислоты + 1 мл пирокатехина. **Приливать все реактивы точно.**

Перемешивать ровно 2 мин, **точно !!!**

Через 2 мин добавить 1 мл фосфорной кислоты, 3 капли крахмала, перемешать. Титровать раствором йода.

Контрольная проба: 20 мл фильтрата кипятят, остужают.

Берут 1 мл кипяченого фильтрата приливают 1 мл 0,4 % H₂O₂ + 2 мл аскорбиновой кислоты + 1 мл пирокатехина, 1 мл фосфорной кислоты, 3 капли крахмала, перемешать.

Титровать раствором йода.

Рассчитать активность пероксидаз по формуле:

$$X = (A-B) \cdot 50 \cdot 0,86,$$

где X - активность пероксидаз, выраженная в мл 0,01 н йода на 1 г сырой массы; А - количество 0,01 н йода, которое пошло на **контрольную** пробу; Б - количество 0,01 н йода, которое пошло на **опытную** пробу; 50 мл - разведение, 0,86 - поправка к титру.

4. Результаты записать в таблицу.

Вид растения	Температура, °С	Активность пероксидаз, мл 0,01 н йода на 1 г сырой массы
Почки сирени	5	
	30	
Семена пшеницы	5	
	30	
Картофель	5	
	30	

5. Сделать вывод о зависимости активности пероксидаз от температуры.

VII. РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ

Цель работы: познакомиться с процессами, происходящими в семенах при прорастании; изучить роль фитогормонов в жизнедеятельности растений. Задачи:

1. Определить активность амилаз в семенах в состоянии покоя и при прорастании.
2. Изучить влияние фитогормонов на рост корней различных растений.

Работа 24. Превращение веществ при прорастании семян

Материалы и оборудование: сухие и проросшие семена ржи, пшеницы, гороха, подсолнечника, сосны, ели; раствор Фелинга (раствор CuSO_4 и тартрата калия-натрия в 10%-ном растворе NaOH ; реактив на восстановители, главным образом альдегиды и моносахариды; готовят непосредственно перед употреблением); 1 % раствор йода в йодистом калии; ступки, пестики.

Ход работы

- 1) Растереть в ступке сухие и проросшие семена.
- 2) Растертую массу перенести в 4 разные пробирки (пробирки подписать), залить небольшим количеством воды и нагреть на кипящей водяной бане.
- 3) Слить жидкость в чистые пробирки.
- 4) В раствор добавить равный объем раствора Фелинга и довести до кипения. По количеству образовавшейся Cu_2O дать оценку содержания редуцирующих сахаров.
- 5) К осадку в пробирках прилить раствор йода. По интенсивности окраски дать оценку содержания крахмала.
- 6) Записать результаты в таблицу, оценивая содержимое крахмала и сахара по пятибалльной системе
- 7) Сделать вывод о превращении углеводов при прорастании крахмалистых и маслянистых и белковых семян.

Содержание сахаров и крахмала в сухих и проросших семенах (в баллах)

Культура	Семена	Крахмал	Сахара
	Сухие		
	Проросшие		

Работа 25. Влияние гетероауксина на рост растений

Материалы и оборудование: семена ржи, пшеницы, гороха, подсолнечника, сосны, ели; 0,01 % раствор гетероауксина; чашки Петри (5 шт.); пипетки на 1 и 10 мл; линейка.

Ход работы. На дно 5 чашек Петри поместить по кружку фильтровальной бумаги, налить в них растворы гетероауксина следующих концентраций.

Вариант/чашка	Концентрация гетероауксина
1	10 мл 0,01 % раствора гетероауксина
2	1 мл 0,01 % р-ра гетероауксина + 9 мл дистиллированной воды
3	1 мл 0,01 % р-ра гетероауксина из второй чашки + 9 мл воды
4	1 мл 0,01 % р-ра гетероауксина из третьей чашки + 9 мл воды
5 - контроль	10 мл дистиллированной воды

Поместить в каждую чашку по 10 одинаковых семян, закрыть крышками и поставить в теплое, темное место. Через 5-7 дней измерить длину корешков и coleoptилей у всех растений, рассчитать среднюю величину и заполнить таблицу.

Вариант	Средняя длина корней		Средняя высота coleoptиля	
	см	% к контролю	см	% к контролю
1				
2				
3				
4				
5 - контроль				

Установить, какие концентрации гетероауксина задерживают, а какие стимулируют рост корней и coleoptилей.

Рецепты приготовления некоторых растворов, реактивов и материалов

Приготовление молярных растворов. Определить молекулярную массу по сумме относительных атомных масс элементов, из которых состоит данное соединение. Для получения 1 моль·л⁻¹ раствора взвесить навеску вещества (г), соответствующую его молекулярной массе, растворить в дистиллированной воде и довести объем до 1 л.

Приготовление нормального раствора. Молекулярную массу разделить на валентность соединения, то есть у кислот на число замещаемых Н-ионов, у оснований - на число замещаемых ОН-ионов, получить эквивалентную массу. Для получения 1н раствора навеску вещества (г), соответствующую его эквивалентной массе, растворить в дистиллированной воде и довести объем до 1л.

Раствор Люголя - раствор йода в йодиде калия (J в КJ). 2-3 г йодида калия растворить в 5-10 мл дистиллированной воды, затем добавить 1 г металлического йода. Когда последний полностью растворится, довести объем до 300 мл дистиллированной водой. Раствор хранить в темной склянке с притертой пробкой. Срок годности 30 дней.

Крахмальный клейстер 1 %. 1 г растворимого крахмала высыпать в стакан, прилить 20 мл холодной воды и тщательно размешать стеклянной палочкой. Налить в колбу 80 мл воды, нагреть до кипения, вылить в нее содержимое стакана, взболтать, дать раствору еще раз закипеть и снять с огня.

Фелингова жидкость. Готовится непосредственно перед употреблением путем смешивания равных объемов двух растворов, которые хранятся до этого отдельно. Раствор 1:40 г перекристаллизованного медного купороса растворить в небольшом количестве дистиллированной воды, довести объем до 1 л и профильтровать. Раствор 2: растворить 200 г сегнетовой соли (виннокислый калий, натрий) в дистиллированной воде, добавить 150 г КОН или NaOH и довести дистиллированной водой до 1 л.

Охлаждающие смеси. На 100 частей снега добавить одну из следующих солей: 30 частей KCl (-10,9 °С), 50 частей NaNO₃ (-17,7 °С), 33 части NaCl (-21,3 °С), 143 части CaCl₂ (кристаллический) (-50,0 °С).

Песок кварцевый для растирания растительных тканей промыть проточной водой для удаления илистых частиц. Залить на сутки концентрированной HCl. Отмыть кислоту, проверяя pH с помощью универсальной индикаторной бумаги. Прокалить в муфельной печи до розового цвета (2-3 часа).

Хромовая смесь (хромпик). 63 г хромата калия (IV) растворить в 35 мл воды и осторожно долить концентрированной H₂SO₄ до 1 л. Способ употребления: налить хромовую смесь в посуду на 1/4, осторожно смочить стенки и слить обратно в склянку. Дать постоять несколько минут (очень грязной посуде - несколько часов) и промыть водой. Пипетки поставить в высокий цилиндр, заполненный хромовой смесью. Не следует мыть хромовой смесью посуду, загрязненную парафином, минеральными маслами и другими продуктами перегонки нефти, солями бария. После долгого употребления раствор приобретает зеленую окраску. Такая смесь утрачивает моющие свойства и непригодна для дальнейшего использования.

Обработка химической посуды. Посуду мыть мыльным раствором или хромовой смесью. После хромовой смеси тщательно промыть водопроводной водой, а затем дистиллированной. Сушить в перевернутом состоянии.

Обработка предметных и покровных стекол. Стекла промыть в мыльном растворе, а затем не более 20-30 мин кипятить, применяя стиральный порошок. Прокипяченные стекла взять из раствора пинцетом и промыть в проточной воде в течение 10-15 мин. Из проточной воды стекла также пинцетом перенести в раствор хромовой смеси и выдержать в нем не менее суток. Затем промыть проточной и дистиллированной водой. С чистых обезжиренных стекол вода скатывается не задерживаясь.

Раствор краски 2,6-дихлорфенолиндофенола. Для приготовления раствора на технических весах на часовом стекле отвешивают 60 мг краски, переносят в мерную колбу на 200 мл, прибавляют 100-150 мл теплой дистиллированной воды и 4-5 капель 0,01 нормальной щелочи. Колбу сильно взбалтывают в течение 10 минут. После охлаждения доливают водой до метки и опять взбалтывают. Затем фильтруют через плотный фильтр в сухую колбу. Раствор краски может быть использован в течение 3 дней при условии проверки титра в день употребления. При хранении в холодильнике им можно пользоваться в течение 8 дней.

Приложение 2

Молекулярные массы некоторых соединений

Вещество	Молекулярная масса	Вещество	Молекулярная масса
Неорганические соли		Кислоты	
CaCl ₂ ·6H ₂ O	219,09	HCl	36,47
Ca(NO ₃) ₂	164,10	HNO ₃	63,02
Ca ₃ (PO ₄) ₂	310,20	H ₂ SO ₄	98,08
CaSO ₄ ·2H ₂ O	172,17	H ₃ PO ₄	98,00
FeCl ₃ ·6H ₂ O	270,32	CH ₃ COOH	60,05
Fe ₃ (PO ₄) ₂	357,51	Щелочи	
KCN	97,17	KOH	56,10
KCl	74,55	NaOH	40,01
KH ₂ PO ₄	136,09	NH ₄ OH	35,05
K ₂ HPO ₄	174,18	Ba(OH) ₂	171,38
KNO ₃	101,10	Ca(OH) ₂	74,10
K ₂ SO ₄	174,25	Органические вещества	
MgCl ₂ ·6H ₂ O	203,33	Карбамид	60,06
MgSO ₄ ·7H ₂ O	246,49	Глюкоза	180,16
NaCl	58,45	Сахароза	342,30
NaH ₂ PO ₄	119,99	Абсцизовая кислота	264,3
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	178,01	Гибберелловая кислота	346,4
NaNO ₃	85,01		
Na ₂ SO ₄ ·10H ₂ O	322,21	Кинетин	215,2
NH ₄ Cl	53,50	ИУК	175,20
NH ₄ MgPO ₄	137,34	ИМК	203,20
NH ₄ NO ₃	80,05	2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота	221,00
(NH ₄) ₂ SO ₄	132,14		

Признаки голодания растений по элементам питания

Элемент	Симптомы недостаточности
N	Слабый рост, карликовость, склероморфизм. Отношение побеги/ корни сдвинуто в пользу корней. Преждевременное пожелтение более старых листьев, их некротические концы.
P	Задержка цветения, отсутствие роста, фиолетовая окраска листьев и стеблей, тенденция к скручиванию и перевертыванию листьев.
K	Белые и бурые пятна, рваный край листа, дырки, отверстия в листе, краевой ожог листьев (запал). По мере возрастания дефицита элемента повреждения увеличиваются.
S	Сходны с симптомами азотной недостаточности. Отставание в росте растений. Листья от бледно-зеленой до кремовой и желтой окраски (молодые листья). При голодании по сере отсутствует характерный признак азотистого голодания - общее пожелтение всего растения.
Mg	Белые или желтые пятна на листьях сливаются, лист бурееет и отмирает. При глубоком дефиците листья узкие, по цвету - красные, оранжевые, пурпурные. Наблюдается слабый рост и межжилковый хлороз старых листьев.
Ca	Гофрированные, сморщенные листья с некротическими зонами. Отсутствие верхушечных почек. Нарушение роста, связанного с делением и растяжением клеток. Ослизнание корней.
Fe	Бледно-желтая окраска ткани листьев между жилками у молодых листьев, жилки остаются зелеными. Хлороз. Малая мощность растения, неурожай. Старые листья поражаются сходным образом позже.
Mn	Однородная желтизна старых и молодых листьев, а также верхушечной почки. На ранних стадиях - угнетение роста и межжилковый хлороз. На поздних стадиях межжилкового хлороза нет.
B	Отмирание верхушечных почек, закрученные, деформированные листья; черная гниль у корнеплодов свеклы, моркови; полые кочерыжки капусты.
Zn	Ярко-желтая окраска всей поверхности листьев и зеленый цвет жилок. Желтые полосы на листьях злаков. Мелколистность верхушечных побегов. «Розеточность», «желтуха», «мелколистность», «пятнистость листьев» - так называется дефицит Zn.
Si	Бледно-желтая окраска листьев или полосатые закрученные листья. Вдоль краев листьев хлороз с последующим некрозом.
Mo	Узкие, длинные, скрученные листья, выемки на листовой пластинке, хлороз сложных листьев, включая черешок.
Na	Растения не испытывают недостатка. Избыток проявляется в виде неоднородной пестроты, некроза верхушек листьев, краев и тканей между жилками.
Cl	Из видимых симптомов - увядание растений, остальные симптомы специфичны для отдельных видов растений. Дефицит встречается редко.

Список растений, используемых в физиологических опытах

Комнатные горшечные растения:

1. Пеларгония (герань) зональная садовая - *Pelargonium zonale x hortorum* Bailey.
2. Сансевиера трехполосая - *Sansevieria trifasciata* Prain.
3. Традесканция с зелеными листьями - *Tradescantia* L. sp.
4. Т. пестролистная - *Tradescantia* sp.

Овощные растения:

1. Картофель культурный (клубни) - *Solanum tuberosum* L.
2. Лук репчатый обыкновенный (луковицы) - *Allium cepa* L.
3. Свекла (красные корни) - *Beta vulgaris* L. *Subsp. Rapacea var. Atrorubra* Krass.

Растения, у которых используются семена:

1. Горох посевной - *Pisum sativum* L.
2. Подсолнечник культурный - *Helianthus annuus* L. *cultus ssp. sativus* Wenzl.

Деревья и кустарники:

1. Береза повисшая или бородавчатая - *Betula pendula* Roth.
2. Кизильник черноплодный - *Cotoneaster melanocarpus* Fisch. ex Blytt.
3. Клен ясенелистный или американский - *Acer negundo* L.
4. Липа сердцевидная или мелколистная - *Tilia cordata* Mill.
5. Сирень обыкновенная - *Syringa vulgaris* L.
6. Сосна обыкновенная - *Pinus sylvestris* L.
7. Тополь белый или серебристый - *Populus alba* L.
8. Яблоня домашняя - *Malus domestica* Borkh.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

Литература для теоретической подготовки

1. Ерохин, А.С. Основы физиологии: Учеб. пособие для подготовки бакалавров: Доп. УМО/ А.С. Ерохин, В.И. Боев, М.Г. Киселева. – М.: ИНФРА-М, 2015. – 320 с.
2. Веретенников, А.В. Физиология растений: учебник / А.В. Веретенников. - М. : Академический проект, 2006. - 480 с.
3. Кузнецов, В.В. Физиология растений: учебник / В.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. школа, 2006. – 742 с.
4. Медведев, С.С. Физиология растений: учебник / С.С. Медведев. - СПб. : Изд-во Санкт-Петербург. гос. ун-та, 2004. - 336 с.

Методические издания

5. Табаленкова, Г.Н. Физиология растений с основами биохимии: сборник описаний лабораторных работ для студентов направления бакалавриата 250100 «Лесное дело» и специальности 250201 «Лесное хозяйство» всех форм обучения: самост. учеб. электрон. изд. / Г.Н. Табаленкова, Т.К. Головкин, И.В. Далькэ. – Сыктывкар: Сыкт. лесн. ин-т., 2012. - 25 с.
6. Воробейков, Г.А. Фитофизиология и прикладная ботаника: вопросы и ответы / Г.А. Воробейков, А.М. Маркаров, В.Н. Бредихин.- Сыктывкар : КГПИ, 2011. - 260 с.

Мариничева Татьяна Владимировна

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ
Учебно-методическое пособие
по подготовке к лабораторным занятиям
для студентов направления 35.03.01 - Лесное дело

Авторская редакция

Подписано в печать _____ Формат 60x84 1/16
Печать офсетная. Печ. л. 1,2 Тираж 250 экз. Заказ _____

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия
603107, г. Н.Новгород, проспект Гагарина, 97

Типография НГСХА