

Министерство образования Республики Беларусь

Учреждение образования  
«Гомельский государственный университет  
имени Франциска Скорины»

**О. М. Храмченкова**

# **ПРАКТИКУМ ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**

## **Часть 1**

Практическое руководство  
для студентов специальности 1-31 01 01-02  
«Биология (научно-педагогическая деятельность)»

Гомель  
2017

УДК 581.1(076)  
ББК 28.57я73  
Х 898

**Рецензенты:**

кандидат сельскохозяйственных наук Т. В. Арастович  
Кандидат биологических наук Н.И. Тимохина

Рекомендовано к изданию научно-методическим советом учреждения образования «Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины»

**Храмченкова О.М.**

Х 898 Практикум по физиологии растений: практическое руководство. Часть 1 / О. М. Храмченкова; М-во образования РБ, Гомельский гос. ун-т им. Ф. Скорины. – Гомель: ГГУ, 2017 – 44 с.

В практическом пособии представлен перечень лабораторных работ по дисциплине «Физиология растений» – разделам «Физиология растительной клетки», «Водный обмен растений», «Минеральное питание» и «Фотосинтез». Лабораторные занятия нацелены на приобретение навыков лабораторного изучения основных процессов жизнедеятельности растительного организма. Приводится список рекомендуемой литературы.

Предназначено для преподавателей и студентов очной и заочной форм обучения специальности «Биология (научно-педагогическая деятельность)».

**УДК 581.1(076)**  
**ББК 28.57я73**

© Храмченкова О. М., 2017  
© УО «Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины», 2017

## Оглавление

Введение.....	4
Занятие 1. Основные принципы функционирования протопласта растительной клетки.....	6
Занятие 2. Закономерности поступления и передвижения воды в растении.....	10
Занятие 3. Транспирация.....	15
Занятие 4. Механизмы поступления и передвижения минеральных элементов в растении.....	18
Занятие 5. Усвоение растениями макроэлементов.....	22
Занятие 6. Влияние внешних условий на поглощение и усвоение растением минеральных элементов.....	25
Занятие 7. Пигментные системы фотосинтетического аппарата	30
Занятие 8. Фотофизическая и фотохимическая стадии фотосинтеза.....	33
Занятие 9. Зависимость фотосинтеза от внутренних и внешних факторов.....	38
Литература.....	42

## Введение

Курс «Физиология растений» относится к числу фундаментальных биологических дисциплин. Физиология растений – наука о жизнедеятельности растительного организма, которая изучает основные физиологические функции растительной клетки, тканей и органов; процессы взаимодействия растительных организмов с внешней средой, механизмы устойчивости растительных организмов.

Физиология растений является наукой, которая интегрирует данные молекулярной биологии и генетики, биохимии и биофизики, экологии растений и на их основе создает целостное представление о физиологических функциях растений, их организации и управлении. Физиология растений является теоретической основой растениеводства и ряда новых направлений биотехнологии.

Целью дисциплины является овладение студентами основами современных представлений о физиологических процессах, протекающих в клетках, в отдельных тканях, органах, а также в растительном организме в целом, механизмах регуляции этих процессов и закономерностях роста, развития растений и их взаимодействия с окружающей средой.

Задачами дисциплины являются:

- ознакомление с общими принципами организации и механизмами действия регуляторных систем в клетке и в целом организме, с экологическими проблемами физиологии растений; проблемами и достижениями в области физиологии растений;

- усвоение современных представлений о природе основных физиологических процессов зеленого растения – энергообмена, ассимиляции веществ, дыхания, роста, развития и размножения, механизмах их регуляции и молекулярных основах процессов, основных закономерностях взаимоотношений растительного организма с внешней средой;

- анализ роли физиологии растений в решении задач практического земледелия и биотехнологии;

- овладение методами теоретического и экспериментального исследования в физиологии растений;

- формирование умений и навыков работы с научной, учебной и популярной литературой.

*В результате изучения дисциплины студент должен:*

*знать:*

– основные понятия, закономерности функционирования метаболических систем, механизмы их регуляции в растительном организме;

– основные физиологические процессы растительной клетки: механизмы фотосинтеза, дыхание, водообмен, рост и развитие растений, устойчивость растений к неблагоприятным факторам;

– физико-химические подходы и методы изучения растительного организма на разных уровнях организации;

– историю и методологию физиологии растений, место в системе научных знаний, вклад выдающихся ученых в становление и развитие основных научных направлений;

– проблемы, достижения в области физиологии растений и перспективы их использования для повышения продуктивности растений.

*уметь:*

– использовать основные закономерности функционирования растительных организмов в качестве научной основы земледелия, растениеводства и биотехнологии;

– использовать методы теоретического и экспериментального исследований в физиологии растений;

– проводить поиск и систематизировать научную информацию по отдельным разделам физиологии растений.

*владеть:*

– основными приемами обработки экспериментальных данных;

– методами оценки показателей физиологических процессов на разных уровнях организации.

Дисциплина «Физиология растений» изучается студентами 2 курса специальности 1–31 01 01–02 «Биология (научно–педагогическая деятельность)». Общее количество часов для студентов очной формы обучения – 210 (5 зачетных единиц); аудиторных – 112, из них: лекции – 60, в том числе – УСП – 18, лабораторные занятия – 52. Форма отчетности – экзамен. Общее количество часов для студентов заочной формы обучения – 210 (5 зачетных единиц); аудиторных – 28, из них: лекции – 16, лабораторные занятия – 12. Форма отчетности – экзамен.

Практическое руководство подготовлено с использованием литературы, приведенной в качестве рекомендуемой.

# ЗАНЯТИЕ 1

## ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПРОТОПЛАСТА РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

### Лабораторная работа 1.1 Наблюдение за движением цитоплазмы у элодеи

*Цель работы:* ознакомиться с методами обнаружения движения цитоплазмы.

*Материалы и оборудование:* микроскоп, настольная лампа, предметные и покровные стекла, пинцет, препаровальная игла, фильтровальная бумага.

*Растения:* элодея канадская.

*Ход работы:*

Отрывают лист вблизи верхушки побега и кладут его в каплю воды, взятой из сосуда с элодеей. Объект накрывают покровным стеклом и рассматривают сначала при малом, затем при большом увеличении. Лист элодеи состоит только из двух слоев клеток, и каждый слой легко просматривается под микроскопом. Обрывание листа вызывает в его клетках движение цитоплазмы, которое легко наблюдать по перемещению всех хлоропластов в одном направлении вдоль клеточной стенки. Такое движение называется ротационным. В двух соседних клетках оно может происходить в разных направлениях – по часовой стрелке и против нее. Наиболее интенсивное движение можно увидеть в длинных узких клетках средней жилки листа. У растений, находившихся перед исследованием при слабом освещении или в темноте, движения хлоропластов обычно не наблюдается. Неподвижные хлоропласты располагаются под клеточными стенками параллельно поверхности листовой пластинки. Но если препарат выдержать несколько минут, не снимая со столика микроскопа, при освещении, то движение появляется.

Хлоропласты начинают двигаться сначала медленно, затем быстрее и занимают положение вдоль боковых клеточных стенок, расположенных перпендикулярно поверхности пластинки листа.

*Задание:* сделать схематический рисунок клеток листа элодеи и стрелками указать направление движения цитоплазмы. Отметить, наблюдалось ли движение сразу после приготовления препарата или оно менялось под действием освещения.

## **Лабораторная работа 1.2 Свойства клеточных мембран**

*Цель работы:* изучить функциональные особенности мембран живых клеток.

*Материалы и оборудование:* микроскоп, предметные и покровные стекла, стеклянная палочка, препаровальная игла, скальпель, пинцет, пробирки – 3 шт., штатив для пробирок, держатель для пробирок, выпарительная чашка 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).

**1.2.1 Сравнение проницаемости мембран живых и мертвых клеток.** В вакуолях клеток корнеплода столовой свеклы содержится бетацианин – пигмент, придающий ткани корнеплода окраску. Тонoplastы живых клеток не проницаемы для молекул этого пигмента. После гибели клеток тонoplast теряет свойство полупроницаемости, становится проницаемым, молекулы пигмента выходят из клеток и окрашивают воду.

*Ход работы:*

Корнеплод свеклы после удаления покровных тканей нарезают на кубики (сторона кубика 5 мм) и тщательно промывают водой, чтобы удалить пигмент, вышедший из поврежденных клеток. Затем по одному кусочку опускают в три пробирки. В первую и вторую наливают по 5 мл воды, в третью – 5 мл 30 % раствора уксусной кислоты. Первую пробирку оставляют для контроля. Содержимое второй кипятят 2-3 мин.

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.

**1.2.2 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:*

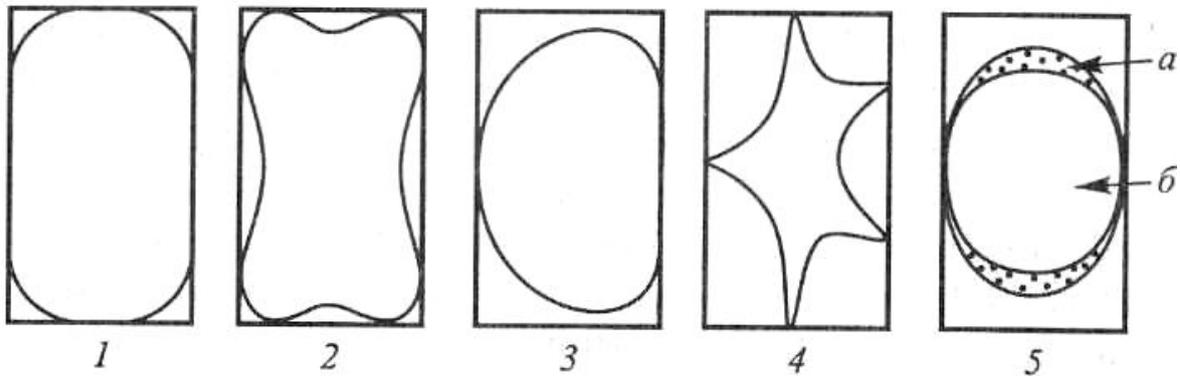
На два предметных стекла наносят по капле раствора: на одно – 1М раствор сахарозы, на другое – 1М раствор карбамида (мочевины). В каждую каплю помещают по кусочку эпидермы лука, снятой с выпуклой поверхности одной и той же чешуи луковички, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом сначала при малом, потом при большом увеличении объектива. Находят участки листа, в которых хорошо видны плазмолизованные клетки. Отмечают время начала плазмолиза (начало наблюдения), зарисовывают плазмолизованные клетки и оставляют препараты на 30-60 мин, затем вновь их рассматривают. 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, плазмолизованные и деплазмолизованные клетки и сформулировать выводы.

### **1.2.3 Влияние ионов калия и кальция на форму плазмолиза**

В ходе плазмолиза форма плазмолизованного протопласта меняется. Вначале протопласт отстает от клеточной стенки лишь в отдельных местах, чаще всего в уголках. Плазмолиз такой формы называют *уголковым*. 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 про-

топласта 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 – уголкового; 2 – вогнутого; 3 – выпуклого; 4 – судорожного; 5 – колпачкового (*a* – цитоплазма; *b* – 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 наносят каплю 1М раствора нитрата калия, на другое – 0,7 М раствора нитрата кальция. В обе капли помещают по кусочку эпидермы лука, снятой с выпуклой поверхности одной и той же чешуи луковицы, накрывают покровными стеклами. Через 5-10 мин препараты рассматривают под микроскопом.

*Задание:* зарисовать схему опыта, плазмолизованные и деплазмолизованные клетки и сформулировать выводы.

## ЗАНЯТИЕ 2

# ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПОСТУПЛЕНИЯ И ПЕРЕДВИЖЕНИЯ ВОДЫ В РАСТЕНИИ

### 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 злаков<sup>1</sup>.

*Ход работы:*

Берут навески 2 – 3 г семян разных видов растений, помещают их в чашки Петри, заливают водой, обращая внимание на полное смачивание семян. Чашки Петри закрывают крышками, оставляют на 3 часа. Через три часа семена вынимают из чашки Петри, быстро обсушивают фильтровальной бумагой, и взвешивают. Результаты записывают в таблицу.

Степень набухания семян злаковых 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.

---

<sup>1</sup> Можно использовать семена других культур – подсолнечника, рапса, редиса и др.

## 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 уменьшается. 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, пипетки на 10 мл, пинцет, скальпель, линейка, 1 М раствор сахарозы.

*Растения:* крупные клубни картофеля.

*Ход работы:*

При помощи разбавления 1 М раствора сахарозы в пробирках готовят 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 вырезают 14 полосок длиной 4-6 см и сечением около 4 мм<sup>2</sup>. Концы полосок срезают наискось. **Работать следует быстро, чтобы исключить подсыхание полосок.** Линейкой точно измеряют их длину и помещают по две в каждую пробирку с приготовленным раствором. Через 20 мин полоски вынимают, обсушивают фильтровальной бумагой и снова измеряют их длину. Для расчета величины водного потенциала берут концентрацию, при которой длина полосок не изменяется. Величину водного потенциала рассчитывают по формуле:  $\Psi_{\text{w ткани}} = \Psi_{\text{w раствора}} = -RTci$ , 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 записывают 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 2.2 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 полученных данных 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:*

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

Состояние клеток после пребывания в растворах

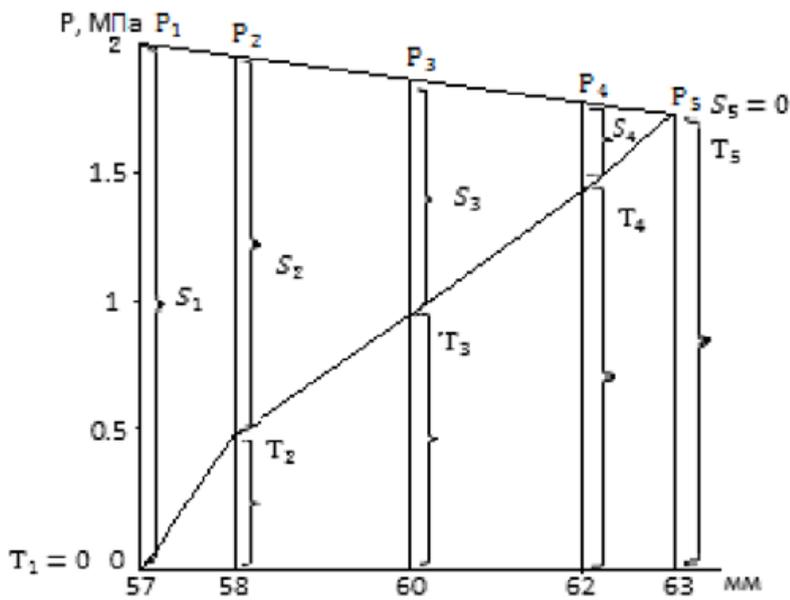
Длина полоски $V$ , мм				
Сосущая сила $S$ , кПа				
Осмотическое давление $P$ , кПа				
Тургорное давление $T$ , кПа				

Длина полосок ( $V$ ). В первую строку таблицы записывают 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) берут 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, считают, 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 ( $273^\circ +$  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):  $P_1V_1= P_nV_n$ , откуда  $P_n= P_1V_1/V_n$ .



Зависимость осмотических показателей от степени насыщения клеток водой

Тургорное давление ( $T$ ) находят по формуле:  $S = P - T$ , откуда  $T = P - S$ . Заполнив таблицу, чертят диаграмму (образец – на рисунке). Для этого на миллиметровой бумаге чертят систему координат: ось абсцисс ( $X$ ) – миллиметры, ось ординат ( $Y$ ) – кПа. На оси абсцисс откладывают длину полосок ( $V$ ), например, 1 мм = 1 см, причем точку пересече-

ния осей обозначают не нулем (0), а –  $V_1$ . На оси ординат откладывают значения для  $P$  и  $T$ , соединяют 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.

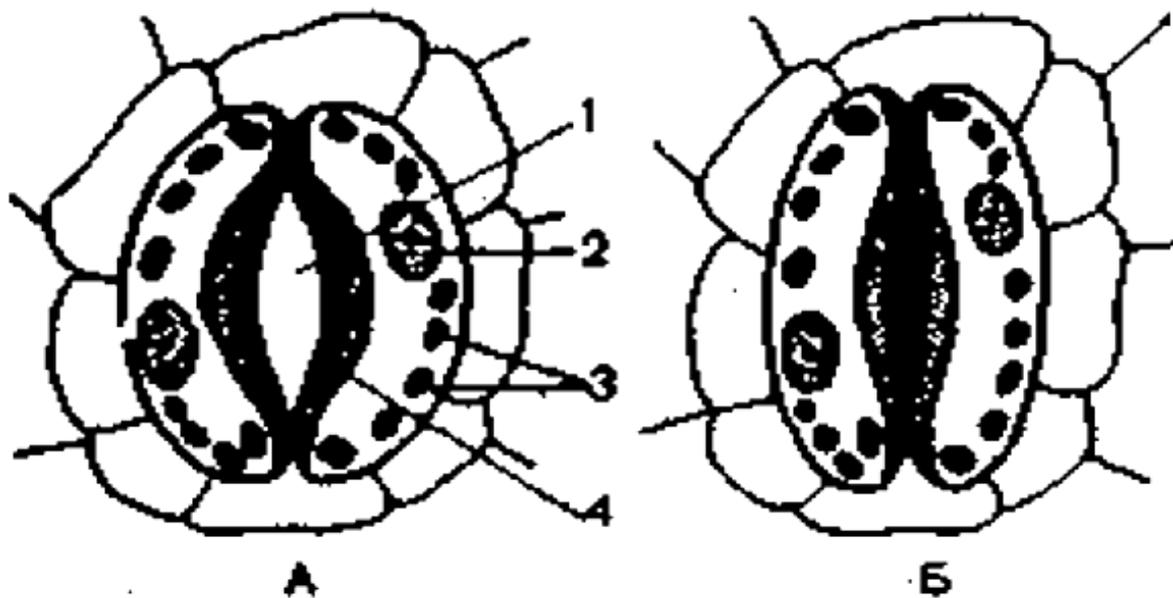
Транспирация, как и испарение, – диффузионный процесс, а потому определяется градиентом водного потенциала в системе «растение-воздух». Транспирация как физический процесс зависит от дефицита насыщения воздуха водяными парами, температуры, освещенности, ветра (движения воздуха), а также величины и формы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

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

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

*Растения:* листья традесканции.

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



Строение устьиц у двудольных: А – открытое устьице; Б – закрытое устьице. 1 – устьичная щель; 2 – ядро; 3 – хлоропласты; 4 – толстая клеточная оболочка

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.

*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. Срезают лист, берут его пинцетом, кладут на чашку весов, взвешивают. Через 5 мин после взвешивания первого листа повторно взвешивают 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 выполняют по суммарной массе и площади всех листьев.

Определение площади листа. Лист растения накладывают на тетрадную бумагу, обводят контур остро отточенным карандашом, получают отпечаток листа. Вырезают бумагу по контуру листовой пластинки и взвешивают. Одновременно из такой же бумаги вырезают квадрат, например площадью  $100 \text{ см}^2$  ( $10 \times 10 \text{ см}$ ), и взвешивают. Площадь исследуемого листа находят по формуле:

$$S = a \cdot c / b,$$

где  $a$  – масса контура листа, г;  $b$  – масса квадрата бумаги, г;  $c$  – площадь квадрата бумаги,  $\text{см}^2$ .

Рассчитывают количество воды, испарившейся из 1 г сырых листьев за 1 час. Интенсивность транспирации [ $\text{г}/(\text{м}^2 \cdot \text{ч})$ ] рассчитывают по формуле:

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

где  $C$  – убыль в массе за время опыта, г;  $S$  – площадь листа,  $\text{см}^2$ ,  $t$  – продолжительность опыта, ч.

Определяют количество устьиц на нижнем эпидермисе. Готовят водный препарат нижнего эпидермиса каждого вида растений. Считают количество устьиц в поле зрения на малом увеличении. Вычисляют 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.

## ЗАНЯТИЕ 4

# МЕХАНИЗМЫ ПОСТУПЛЕНИЯ И ПЕРЕДВИЖЕНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В РАСТЕНИИ

### Лабораторная работа 4.1 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  $\text{HNO}_3$ ; 5 % раствор  $\text{NaOH}$ ; 2 % раствор  $\text{HCl}$ ; 5 % раствор щавелевой кислоты; 10 % раствор  $(\text{NH}_4)_2 \text{MoO}_4$ ; 1 % раствор уксусной кислоты; 10 % раствор  $\text{BaCl}_2$ ; 10 % раствор  $\text{HNO}_3$ ; 5 % раствор  $\text{NH}_4\text{CNS}$ ; 10 % раствор аммиака; 1 % раствор  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; этиловый спирт; 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  $\text{PbO}_2$ ) кристаллический; азотнокислый аммоний  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  кристаллический.

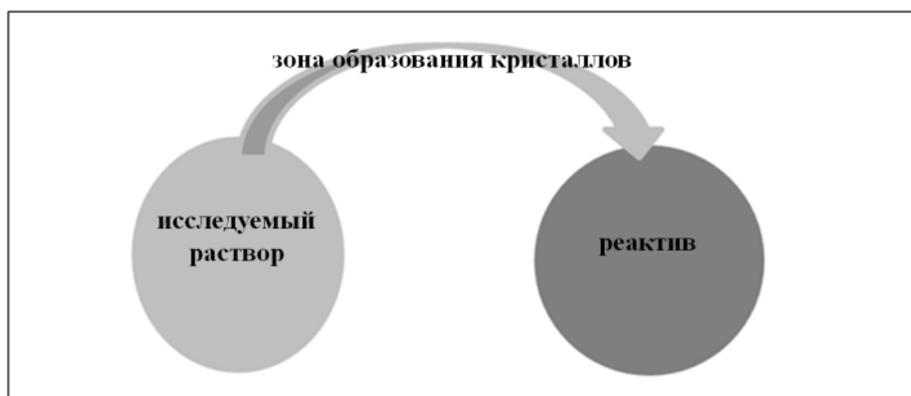
*Растения:* зола растений.

*Ход работы:*

Берут навеску золы 1 г в фарфоровый тигель, добавляют 1 мл кон-

центрированной  $\text{HNO}_3$ , перемешивают, приливают 15 мл воды, нагревают до кипения, быстро отфильтровывают горячий раствор от нерастворимых частиц угля и кремнезема. Фильтрат делят на две части. Одну часть разливают в три пробирки по 2-3 мл для открытия макроэлементов (калия, фосфора и серы). Другую часть фильтрата доводят 5 % раствором  $\text{NaOH}$  (приливая его по каплям) до слабо щелочной реакции и отфильтровывают выпавший студенистый осадок. Осадок сохраняют для определения микроэлементов, а щелочной раствор после его нейтрализации 2 %  $\text{HCl}$  и слабого подкисления несколькими каплями уксусной кислоты переливают в четвертую пробирку, и используют для открытия кальция.

Для открытия макроэлементов проделывают с растворами следующие реакции (таблица). Одновременно с операциями в пробирках проводят те же реакции на предметных стеклах, после чего рассматривают кристаллы выпавших осадков под микроскопом при малом увеличении и без покровного стекла, и зарисовывают их.

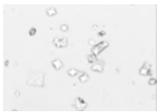
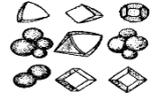
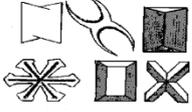


Все реакции, производимые на предметном стекле, выполняют следующим образом: маленькие капли исследуемого раствора и реактива наносят

на расстоянии 1 см друг от друга. Затем чистой стеклянной палочкой соединяют 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\*

№	Открытый ион	Проведение реакции, уравнение реакции	Результат
1	$\text{K}^+$	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 

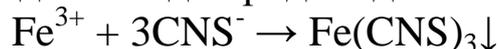
2	Ca <sup>2+</sup>	Прилить 0,5 – 1 мл 5 % раствора щавелевой кислоты $\text{Ca}^{2+} + \text{C}_2\text{O}_4^{2-} \rightarrow \text{CaC}_2\text{O}_4\downarrow$	Белая муть или белый осадок 
3	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Внести небольшой кристалл NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> , нагреть до кипения и прибавить 1 мл 10 % раствора (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> $\text{H}_3\text{PO}_4 + 12(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4 + 21\text{HNO}_3 \rightarrow (\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3\downarrow + 21\text{NH}_4\text{NO}_3 + 12\text{H}_2\text{O}$	Золотисто-желтый осадок 
4	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Прилить 1 мл 10 % раствора BaCl <sub>2</sub> $\text{SO}_4^{2-} + \text{Ba}^{2+} \rightarrow \text{BaSO}_4\downarrow$	Белая муть или белый осадок 
5	Mg <sup>2+</sup>	Прилить 1 мл 10 % раствора аммиака, затем – 2 мл 1 % раствора Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NH}_3 \rightarrow \text{NH}_4\text{MgPO}_4\downarrow + 2\text{NaNO}_3$	Белая муть или белый осадок 

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

Следующие реакции проводят только в пробирках.

Обливают осадок, оставшийся на фильтре, 10 мл 10 % раствора HNO<sub>3</sub> и разливают раствор в две пробирки по 2-3 мл.

Для открытия железа в одну пробирку приливают 2-3 капли 5 % раствора NH<sub>4</sub>CNS – при наличии железа появляется красное окрашивание раствора – выпадает осадок роданида железа.



Для открытия марганца приливают к осадку 0,5 мл концентрированной HNO<sub>3</sub> и добавляют около 0,1 г надсернистого аммония (или 0,5 г перекиси свинца), нагревают 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 4.2 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.

### **4.2.1 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 наливают воду, растворы метиленовой сини и эозина на высоту около 1мм. Помещают проростки, доливают жидкости так, чтобы была покрытой вся корневая система. Через 15 мин промывают корневые системы проростков, находившихся в растворах метиленовой сини и эозина, под лупой рассматривают внешний вид корневой системы проростков, выделяют зоны корня, зарисовывают. Пинцетом отделяют один корешок, помещают на предметное стекло, добавляют каплю воды, накрывают покровным стеклом, под микроскопом рассматривают зоны перемещения красителей.

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

### **4.2.2 Выделение воды их 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 наливают воду и насыщенный раствор NaCl, Отбирают два более или менее одинаковых проростка, помещают их в бюксы, доливают жидкости так, чтобы был покрыт весь корень. Через 15 мин проростки вынимают из бюксов, определяют наличие тургора в их корнях.

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

## ЗАНЯТИЕ 5

# УСВОЕНИЕ РАСТЕНИЯМИ МАКРОЭЛЕМЕНТОВ

### Лабораторная работа 5.1 Обнаружение нитратов в растениях

Соли азотной кислоты (нитраты), поглощаемые корнями из почвы, восстанавливаются в растении до аммиака через ряд этапов, каждый из которых катализирует особый фермент. Аммиак связывается кетокислотами ( $\alpha$ -кетоглутаровой, щавелевоуксусной и пировиноградной), образуя в процессе восстановительного аминирования первичные аминокислоты – глутаминовую, аспарагиновую и аланин. Другие аминокислоты образуются путем трансаминирования или ферментативного превращения одних аминокислот в другие. При достаточном содержании растворимых углеводов и высокой активности соответствующих ферментов перечисленные биохимические процессы происходят в корнях. Однако часть нитратов (нередко весьма значительная) может пройти через паренхиму корня в неизменном виде. В этом случае нитраты попадают в сосуды ксилемы и поднимаются с восходящим током к листьям, где и происходит их восстановление. Для восстановления нитратов требуется АТФ, образующаяся в процессе окислительного или фотофосфорилирования. Определение содержания нитратов в соке, отжатом из стеблей или черешков, позволяет судить о восстановлении нитратов в корнях: чем меньше обнаруживается ионов  $\text{NO}_3^-$  в соке, тем полнее проходит этот процесс в клетках корня. Сопоставление содержания нитратов в черешках и листовых пластинках дает представление о нитратредуктазной активности клеток мезофилла. Для обнаружения нитратов можно использовать реакцию с дифениламином, который в присутствии иона  $\text{NO}_3^-$  образует синюю анилиновую краску. По интенсивности посинения можно приблизительно судить о количестве нитратов в исследуемом объекте.

*Цель работы:* обнаружение нитратов в тканях комнатных растений.

*Материалы и оборудование:* белая пластиковая тарелка, ножницы, стеклянная палочка, стакан с водой, фильтровальная бумага, штатив, три пробирки, три резиновые пробки для пробирок, 1М раствор нитрата калия, 0,7 М раствор нитрата кальция, 1 М раствор нитрата аммония, раствор дифениламина в серной кислоте.

*Растения:* стебли и листья пеларгонии, подкормленной азотными удобрениями за 2 – 3 дня до проведения опыта; стебли и листья пеларгонии, помещенной в темноту за 2 – 3 дня до проведения опыта; стебли и листья других комнатных растений (гибискус, традесканция), выращенных без дополнительной подкормки.

*Ход работы:*

Отрезают часть стебля с листом. На белую пластиковую тарелку помещают кусочки стебля, черешка и листовой пластинки испытуемого вида растения, разминают эти кусочки стеклянной палочкой (палочку каждый раз споласкивают чистой водой и вытирают). Подготовленные фрагменты растительных тканей обливают раствором дифениламина в серной кислоте, наблюдают появление синей окраски. Результаты наблюдений записывают в таблицу, оценивая интенсивность окраски по пятибалльной шкале. В качестве образца для сравнения в трех пробирках проводят реакции растворов  $KNO_3$ ,  $Ca(NO_3)_2$  и  $NH_4NO_3$  с дифениламином, принимая за оценку «5» результат реакции с наиболее интенсивным окрашиванием – в пробирку прилить 1 мл раствора испытуемой соли, добавить 0,5 мл раствора дифениламина, пробирку закрыть пробкой, взболтать содержимое.

Количество нитратов в растениях

Объект исследования	Условия выращивания	Количество нитратов, баллов		
		в стебле	в черешке	в листе
Пеларгония	на свету, с подкормкой			
Пеларгония	на свету			
Пеларгония	в темноте			
Традесканция	на свету			
Гибискус	на рассеянном свету			

*Задание:* описать схему опыта, сделать выводы о наличии (или отсутствии) нитратной формы азота в различных органах растения.

### **Лабораторная работа 5.2 Влияние анионов и катионов солей на форму и время плазмолиза**

Одной из причин антагонизма одновалентных и двухвалентных катионов считается их противоположное действие на вязкость и гидрофильность протоплазмы клеток. Например, калий повышает гидрофильность и понижает вязкость плазмы. Преобладание кальция

приводит к увеличению вязкости и снижению гидрофильности. О вязкости плазмы можно судить по времени плазмолиза клеток в растворах солей. Временем плазмолиза называется период с момента помещения ткани растения в раствор до наступления выпуклого плазмолиза. Оно зависит от природы как катиона, так и аниона.

*Цель работы:* изучить влияние катионов и анионов на вязкость цитоплазмы.

*Материалы и оборудование:* микроскоп, предметные и покровные стекла, препаровальная игла, скальпель, склянка с водой, 1М раствор нитрата калия, 1М раствор хлорида калия, 0,7 М раствор нитрата кальция, 1М раствор хлорида аммония, 1 М раствор нитрата аммония.

*Растения:* луковица лука репчатого (синеватые или красноватые сорта).

*Ход работы:*

На предметное стекло в каплю исследуемого раствора помещают кусочек эпидермиса с выпуклой стороны окрашенной чешуи лука, отмечают время начала опыта. Препарат накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом при малом увеличении. Наблюдают изменение формы плазмолиза. Сначала он может быть вогнутым и даже судорожным, а потом принимает выпуклую форму. Чем меньше вязкость плазмы, тем быстрее достигается выпуклый плазмолиз. Отмечают время наступления выпуклого плазмолиза у большинства клеток препарата. Результаты наблюдения записывают в таблицу.

Влияние катионов и анионов на форму и время плазмолиза

Варианты опыта	Концентрация растворов, М	Время погружения ткани в раствор	Время наступления выпуклого плазмолиза	Время плазмолиза, мин
$KNO_3$	1			
KCl	1			
$Ca(NO_3)_2$	0,7			
$NH_4Cl$	1			
$NH_4NO_3$	1			

*Задание:* описать схему опыта, определить время плазмолиза и сделать выводы о влиянии катионов и анионов солей на вязкость цитоплазмы

## ЗАНЯТИЕ 6

# ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ УСЛОВИЙ НА ПОГЛОЩЕНИЕ И УСВОЕНИЕ РАСТЕНИЕМ МИНЕРАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

### Лабораторная работа 6.1 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 рН среды. Если из растворов солей растение поглощает больше катионов, а анионы накапливаются в среде, то рН 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  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и  $\text{NaNO}_3$ .

*Растения:* 10-дневные проростки любых зерновых культур.

*Ход работы:*

В пробирки на  $2/3$  их объема наливают 0,1 М растворов  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и  $\text{NaNO}_3$ . При помощи индикаторной бумаги определяют рН растворов. Затем в растворы помещают 6 – 8 проростков испытуемых культур. Через 2–2,5 ч снова определить значение рН исследуемых растворов и сделать вывод о физиологической реакции солей. Результаты опыта записывают в таблицу.

Физиологическая реакция солей

Растворы солей	Исходное значение рН	Конечное значение рН	Физиологическая реакция солей
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$			
$\text{NH}_4\text{NO}_3$			
$\text{NaNO}_3$			

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

## **Лабораторная работа 6.2 Влияние аэрации на поглощение питательных веществ корнями растений**

Поглощение минеральных элементов корнями растений является активным физиологическим процессом. Об этом свидетельствует большая скорость поглощения, поступление веществ против градиента концентрации, зависимость поглотительной деятельности корней от условий окружающей среды и т.д. Как любой активный процесс, поглощение минеральных элементов осуществляется с затратой энергии, источником которой в живых организмах служит процесс дыхания. Условия, затормаживающие дыхание, будут отрицательно действовать и на поглотительную деятельность корней. В этом можно убедиться на опыте, помещая корни растений в анаэробные условия.

*Цель работы:* демонстрация влияния аэрации на поглощение питательных веществ корнями растений.

*Материалы и оборудование:* белая пластиковая тарелка, ножницы, стеклянная палочка, стакан с водой, фильтровальная бумага, алюминиевая фольга, пипетка с грушей, плотно заткнутые пробками конические колбы на 50–100 мл, стакан с водой, фильтровальная бумага, заполненные прокипяченными и охлажденными растворами  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и  $\text{NaNO}_3$ ; дистиллированная вода, три пустые конические колбы на 50–100 мл; 0,1 М растворы  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и  $\text{NaNO}_3$ , раствор дифениламина в серной кислоте.

*Растения:* 10-дневные проростки любых зерновых культур.

*Ход работы:*

Колбы с прокипяченными растворами  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и  $\text{NaNO}_3$  доливают дистиллированной водой до края, накрывают листочками алюминиевой фольги, так, чтобы в колбе не оставалось воздуха. Три пустые колбы наполняют растворами  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и  $\text{NaNO}_3$  почти до края, накрывают листочками алюминиевой фольги, так, чтобы в колбе оставался воздух. В фольге, покрывающей колбы, проделывают три отверстия, в которые высаживают проростки испытуемых культур. В колбах с прокипяченными растворами корни проростков должны быть полностью погружены в жидкость, т.е. находиться в анаэробных условиях. В колбах с некипяченными растворами в жидкость погружают только кончики корней; в них в течение 2 часов периодически раз в 15 – 20 минут проводят продувание воздухом с помощью резиновой груши, что обеспечивает хорошую аэрацию в зоне корней.

Через 2 часа срезают листья опытных растений, помещают их на белую пластиковую тарелку, разминают стеклянной палочкой (палочку каждый раз споласкивают чистой водой и вытирают), обливают раствором дифениламина в серной кислоте, наблюдают появление синей окраски. Результаты наблюдений записывают в таблицу, оценивая интенсивность окраски по пятибалльной шкале.

### Влияние аэрации на поглощение питательных веществ корнями растений

Растворы солей	Условия выращивания	Количество нитратов в листьях, баллов
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	анаэробные	
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	анаэробные	
$\text{NaNO}_3$	анаэробные	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	аэробные	
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	аэробные	
$\text{NaNO}_3$	аэробные	

*Задание:* описать схему опыта, на основании полученных данных сделать вывод о влиянии аэрации на поглощение питательных веществ корнями растений.

### **Лабораторная работа 6.3 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 недеятельной 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 распределяется мономерным 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  $1,1 \text{ м}^2$ .

*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  $\text{CaCl}_2$ ; мерный цилиндр, пинцет.

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

*Ход работы:*

Определяют объем корневой системы. Корневую систему исследуемого растения пинцетом погружают 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 наливают в 3 стакана раствор метиленовой сини, объем которой должен быть примерно в 10 раз больше объема корней.

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

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

Концентрацию метиленовой сини в стаканах определяют 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, получают величину общей адсорбирующей поверхности корня. Величину *рабочей адсорбирующей* поверхности находят, 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 промывают водой и помещают в стакан с раствором  $\text{CaCl}_2$ . Наблюдается выделение метиленовой сини в обмен на адсорбированные катионы кальция. Это доказывает наличие обменной адсорбции поглощающей поверхностью корней.

Результаты опыта записывают 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, $\text{м}^2$			Удельная поверхность, $\text{м}^2$	
	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 7

# ПИГМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

### **Лабораторная работа 7.1 Получение спиртового раствора пигментов фотосинтеза**

Пигментная система хлоропласта высших растений представлена двумя типами пигментов: хлорофиллами и каротиноидами. Основным функциональным пигментом 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.

*Цель работы:* ознакомиться с методами экстракции пигментов фотосинтеза.

*Материалы и оборудование:* весы технические, ножницы, ступка с пестиком, воронка, насос Камовского, колба Бунзена, воронка Бюхнера, колба на 50 мл с пробкой, этанол,  $\text{CaCO}_3$ , песок.

*Растения:* зеленые листья любых растений.

*Ход работы:*

Навеску листьев в 5-10 г измельчают ножницами, переносят в фарфоровую ступку, прибавляют на кончике шпателя  $\text{CaCO}_3$  (для нейтрализации кислот клеточного сока), небольшое количество кварцевого песка (для лучшего растирания) и 1-2 мл спирта. Все это тщательно и быстро растирают в ступке, постепенно добавляя (после получения гомогенной массы) спирт несколькими порциями (в целом 10-15 мл).

Гомогенат вместе с осадком аккуратно по пестику переносят на стеклянный фильтр воронки Бюхнера, установленный в колбе Бунзена. Фильтруют с помощью насоса. После окончания фильтрования пестик и стенки ступки обмывают спиртом (3-5 мл) и профильтровывают (повторить 2-3 раза). Прозрачную вытяжку пигментов количественно переносят в коническую колбу на 50 мл, обмывая стенки колбы Бунзена небольшой порцией спирта (общий расход спирта на получение вытяжки не более 50 мл).

*Задание:* описать порядок извлечения пигментов фотосинтеза из растительного материала.

### **Лабораторная работа 7.2 Изучение химических свойств пигментов фотосинтеза.**

*Цель работы:* ознакомиться с химическими свойствами пигментов фотосинтеза.

*Материалы и оборудование:* этиловый спирт в капельнице; бензин, гексан, или толуол; NaOH или KOH кристаллический; 10% соляная кислота в капельнице; уксуснокислая медь; спиртовка; штатив с пробирками; воронки; фильтровальная бумага; стеклянные палочки.

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

*Ход работы:*

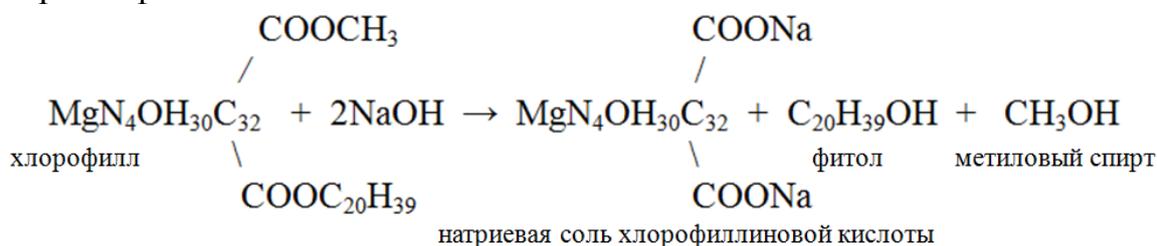
В пробирку налить 2-3 мл спиртового экстракта пигментов и добавить 3-4 мл бензина. Содержимое пробирки сильно встряхнуть, предварительно закрыв ее пробкой или большим пальцем, и оставить отстояться. Для лучшего разделения добавить 1-2 капли воды.

По мере расслоения эмульсии верхний бензиновый слой будет окрашиваться в зеленый цвет, из-за лучшей растворимости в нем хлорофиллов. Кроме того, в бензин 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 бензине, сделать выводы о различной их растворимости.

**7.2.2 Омыление хлорофилла щелочью.** При обработке хлорофилла щелочью происходит омыление эфирных групп, т.е. отщепление остатков метилового спирта и фитола:



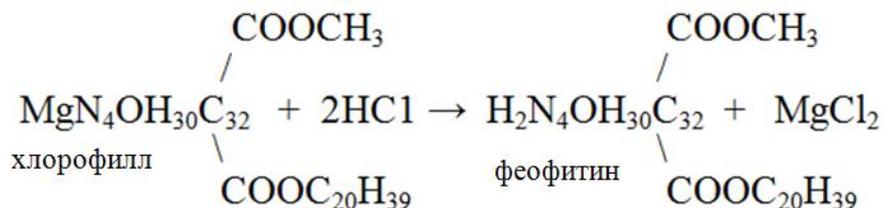
Образуется натриевая соль хлорофиллиновой кислоты, сохраняющая зеленую окраску и оптические свойства хлорофилла, но отличающаяся большей гидрофильностью, по сравнению с неизмененным пигментом.

*Ход работы:*

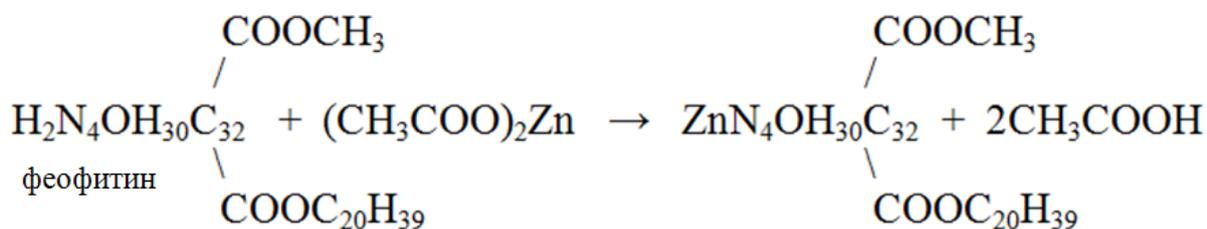
В пробирку с 2-3 мл спиртового раствора пигментов поместить небольшой кристалл KOH или NaOH и взболтать. К раствору прилить равный объем бензина и несколько капель воды для лучшего разделения смеси. Затем содержимое пробирки резко встряхнуть и дать ему отстояться. В бензиновый слой перейдут каротин и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

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

**7.2.3 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 ядро входит соответствующий металл и вновь восстанавливается зеленая окраска. Однако 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 спиртовой вытяжки 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 уксуснокислой меди и нагреть раствор на спиртовке до кипения. После нагревания бурый цвет раствора меняется на зеленый в результате образования хлорофиллоподобного производного меди.

*Задание:* описать ход работы. Зарисовать окраску феофитина и медьпроизводного хлорофилла, записать уравнения реакций.

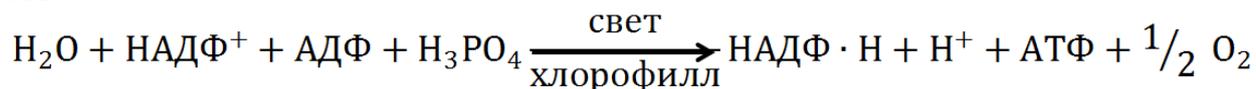
## ЗАНЯТИЕ 8

# ФОТОФИЗИЧЕСКАЯ И ФОТОХИМИЧЕСКАЯ СТАДИИ ФОТОСИНТЕЗА

### Лабораторная работа 8.1 Фотосенсибилизирующее действие хлорофилла на реакцию переноса водорода (по А.А. Гуревичу)

На фотофизической и фотохимической стадиях фотосинтеза происходит окисление воды до молекулярного кислорода при помощи световой энергии, поглощенной хлорофиллом. Освобождающиеся при этом электроны передаются на НАДФ<sup>+</sup>, который восстанавливается до НАДФ·Н. В переносе электронов воды на НАДФ<sup>+</sup> участвуют последовательно фотосистема II и фотосистема I. Фотоокисление воды и выделение кислорода происходит в ходе реакций, протекающих в фотосистеме II, тогда как НАДФ<sup>+</sup> восстанавливается в фотосистеме I. Конечный результат фотоокисления воды – выделение молекулярного кислорода и образование богатых энергией и восстановительной силой соединений – АТФ и НАДФ·Н, необходимых для последующего восстановления диоксида углерода.

Схематично фотолиз воды можно представить следующим образом:



Как видно из уравнения, хлорофилл выполняет здесь функцию фотосенсибилизатора, способствующего переносу электрона к НАДФ<sup>+</sup>.

Фотосенсибилизирующая роль хлорофилла может быть продемонстрирована на модельных реакциях с выделенным из растений пигментом. Для этого в качестве источника водорода берут аскорбиновую кислоту, а акцептора водорода – метиловый красный, который, присоединяя водород, восстанавливается до неокрашенного соединения. Аскорбиновая кислота окисляется в дегидроаскорбиновую кислоту.

*Цель работы:* изучение фотосенсибилизирующего действия хлорофилла.

*Материалы и оборудование:* весы технические, ножницы, ступка с пестиком, воронка, насос Камовского, колба Бунзена, воронка Бюхнера, электрическая лампа, колба на 50 мл с пробкой, штатив, пробирки (4 шт.), пипетка на 10 мл, этанол, СаСО<sub>3</sub>, песок, кристаллическая аскор-

биновая кислота, метиленовый красный (насыщенный раствор в этиловом спирте).

*Растения:* зеленые листья любых растений.

*Ход работы:*

Навеску листьев в 5-10 г измельчают ножницами, переносят в фарфоровую ступку, прибавляют на кончике шпателя  $\text{CaCO}_3$ , небольшое количество кварцевого песка и 1-2 мл спирта. Тщательно и быстро растирают в ступке, постепенно добавляя (после получения гомогенной массы) спирт несколькими порциями (в целом 10-15 мл). Гомогенат переносят на стеклянный фильтр воронки Бюхнера, установленный в колбе Бунзена. Фильтруют с помощью насоса. После окончания фильтрования пестик и стенки ступки обмывают спиртом (3-5 мл) и профильтровывают (повторить 2-3 раза). Прозрачную вытяжку пигментов количественно переносят в коническую колбу на 50 мл, обмывая стенки колбы Бунзена небольшой порцией спирта (общий расход спирта на получение вытяжки не более 50 мл).

В штативе нумеруют четыре пробирки. В первую, вторую и третью пробирки наливают по 5 мл спиртовой вытяжки, в четвертую – 5 мл этилового спирта. В первую, вторую и четвертую пробирки вносят по 50 мг кристаллической аскорбиновой кислоты и несколько раз встряхивают их. В первую, вторую и третью пробирки добавляют по каплям раствор метиленового красного до тех пор, пока зеленая окраска не перейдет в красно-бурую. В четвертой пробирке окраску раствора при помощи индикатора доводят до ярко-розовой. Вторую пробирку закрывают чехлом из черной бумаги, затем все пробирки ставят в штатив и 15 – 20 минут освещают электрической лампой, расположив ее на расстоянии примерно 5 – 10 см от штатива.

После освещения в первой пробирке в результате восстановления метиленовый красный обесцвечивается, и раствор вновь приобретает зеленую окраску. В других пробирках окраска раствора не меняется, так как без света, аскорбиновой кислоты или хлорофилла метиленовый красный не восстанавливается.

Результаты опыта вносят в таблицу.

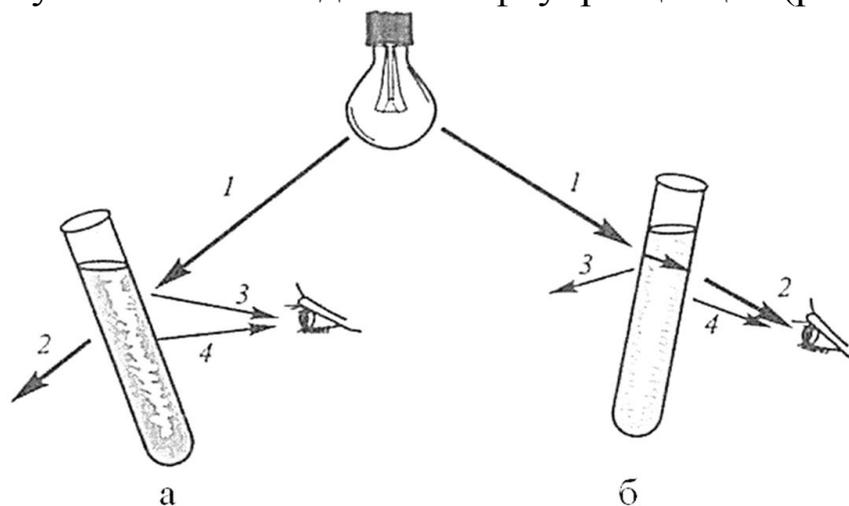
## Определение фотосенсибилизирующего действия хлорофилла

Вариант	Состав смеси в пробирках				Условия	Результат
	спиртовая вытяжка	этанол	аскорби- новая кислота	метилено- вый крас- ный		
1	+	–	+	+	свет	
2	+	–	+	+	темнота	
3	+	–	–	+	свет	
4	–		+	+	свет	

*Задание:* описать ход работы. Заполнить таблицу, сделать вывод о фотосенсибилизирующих свойствах хлорофилла.

### Лабораторная работа 8.2 Наблюдение флуоресценции хлорофилла

Флуоресценция хлорофилла – испускание возбужденной молекулой хлорофилла света с длиной волны, большей, чем длина волны света, возбудившего флуоресценцию. Флуоресценция обнаруживается по красному цвету раствора хлорофилла, рассматриваемого в отраженном свете на темном фоне. Возбуждающий флуоресценцию свет значительно интенсивнее света флуоресценции. Поэтому раствор хлорофиллов выглядит зеленым. В отраженном свете в глаз наблюдателя попадает значительно меньше возбуждающего флуоресценцию света, поэтому становится видна сама флуоресценция (рисунок).



**Спиртовая вытяжка хлорофилла в отраженных (а) и проходящих лучах (б):** 1 – свет лампы, освещающий пробирку с раствором хлорофилла и возбуждающий его флуоресценцию; 2 – свет лампы, проходящий через пробирку с раствором хлорофилла; 3 – свет лампы, отраженный от пробирки; 4 – флуоресценция хлорофилла

Независимо от длины волны возбуждающего света хлорофилл флуоресцирует только красным светом. В живом листе основным флуоресцирующим пигментом является хлорофилл *a*. При этом в листьях флуоресценция выражена гораздо слабее, чем в растворе, так как часть поглощенной энергии используется на сенсibilизирование фотохимических реакций. Поэтому возрастание интенсивности фотосинтеза, как правило, влечет за собой ослабление флуоресценции.

*Цель работы:* наблюдать флуоресценцию хлорофилла.

*Материалы и оборудование:* спиртовая вытяжка из листьев, электрическая лампа, штатив, пробирка.

*Ход работы:*

В пробирку наливают 3-4 мл спиртовой вытяжки пигментов. Рассматривают раствор пигментов в пробирке в отраженном свете настольной лампы (рисунок). Отмечают красную флуоресценцию спиртовой вытяжки листа, которая содержит все пигменты. Рассматривают спиртовую вытяжку листа в проходящем свете, отмечают ее зеленую окраску, обусловленную присутствием хлорофилла. В проходящем свете красная флуоресценция не видна, так как интенсивный проходящий свет маскирует ее.

*Задание:* описать ход работы, сделать вывод о наличии флуоресценции у хлорофилла. Описать способ наблюдения флуоресценции и цвет раствора хлорофилла в проходящем и отраженном свете.

### **Лабораторная работа 8.3 Определение концентрации хлорофиллов на спектрофотометре**

Спектрофотометрический анализ – наиболее точный количественный метод определения содержания пигментов фотосинтеза. Концентрация пигментов на спектрофотометре определяется по оптической плотности растворов. Плотность экстракта на спектрофотометре измеряют при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов *a* и *b* в красной области спектра. Концентрацию хлорофиллов рассчитывают по уравнениям для 96 % раствора этанола:  $C_{\text{хл.а}} = 13,70D_{665} - 5,76 D_{649}$ ;  $C_{\text{хл.б}} = 25,80 D_{649} - 7,60 D_{665}$ , где  $C_{\text{хл.а}}$  и  $C_{\text{хл.б}}$  – соответственно концентрации хлорофиллов *a* и *b*, мг/л;  $D$  – экспериментально полученные величины оптической плотности при соответствующих длинах волн.

*Цель работы:* определить концентрацию хлорофиллов *a* и *b*, рассчитать их соотношение.

*Материалы и оборудование:* спиртовая вытяжка из листьев, спектрофотометр, кюветы для спектрофотометрии, 96 % этанол.

*Ход работы:*

Включить спектрофотометр, наполнить растворами четыре кюветы. Первую, вторую и третью кюветы наполнить до метки спиртовой вытяжкой из листьев. Четвертую – 96 % раствором этанола (холостой раствор).

На клавиатуре спектрофотометра последовательно нажать кнопки: «F» и «λ». Установить требуемую длину волны. Набрать с помощью клавиатуры требуемую длину волны. Например, последовательно нажать кнопки: «6», «4», «9». Нажать кнопку «ENTER». На индикаторе появится заданная длина волны.  $\lambda = 649$ . Вставить в кюветное отверстие кювету с холостым раствором, закрыть крышку и нажать кнопку «ZERO». Произойдет измерение сигнала, соответствующего базовой величине оптической плотности равной 0,000 единиц (начало шкалы отсчета или «нуль» прибора) и на индикаторе появится сообщение  $A = 0,000$ . При этом раздастся непродолжительный звуковой сигнал. Поместить в кюветное отверстие кювету с исследуемым раствором, закрыть крышку и нажать кнопку «A». На индикаторе отобразится измеренная величина оптической плотности раствора. Раздастся непродолжительный звуковой сигнал.

Повторить измерение. Вставить в кюветное отверстие кювету с холостым раствором, закрыть крышку и нажать кнопку «ZERO», на индикаторе появится сообщение  $A = 0,000$ . Поместить в кюветное отверстие кювету с исследуемым раствором, закрыть крышку и нажать кнопку «A». На индикаторе отобразится еще одна измеренная величина оптической плотности раствора.

Оптическую плотность раствора в каждой кювете следует измерять не менее трех раз для каждой длины волны. Для избежания ошибок измерения из одного раствора наполняют не менее трех кювет.

Таким образом, для  $\lambda = 649$  нм и  $\lambda = 665$  нм получают по девять значений оптической плотности. Вычисляют среднее значение оптической плотности раствора при  $\lambda = 649$  нм и  $\lambda = 665$  нм, полученные данные вставляют в формулы расчета концентрации хлорофиллов.

Далее вычисляют величину отношения концентраций хлорофиллов  $a$  и  $b$ .

*Задание:* определить концентрацию хлорофиллов  $a$  и  $b$ , рассчитать их соотношение, сделать вывод из полученных данных.

## ЗАНЯТИЕ 9

### ЗАВИСИМОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА ОТ ВНУТРЕННИХ И ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ

#### **Лабораторная работа 9.1 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, раствор Люголя.

*Растения:* невысокие экземпляры пеларгонии в горшках.

*Ход работы:*



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

По окончании экспозиции бумагу убирают, листья срезают, помещают на несколько минут в кипящую воду, затем переносят в стакан со спиртом, выдерживают на горячей бане до обесцвечивания тканей листа. Листья промывают водой, раскладывают в чашке Петри и заливают раствором Люголя. Наблюдают окраску разных зон листа.

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

#### **Лабораторная работа 9.2 Определение площади листьев**

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

### 9.2.1 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 накладывают на тетрадную бумагу, обводят контур остро отточенным карандашом, получают отпечаток листа. Вырезают бумагу по контуру листовой пластинки и взвешивают. Одновременно из такой же бумаги вырезают квадрат, например площадью  $100 \text{ см}^2$  ( $10 \times 10 \text{ см}$ ), и взвешивают. Площадь исследуемого листа находят по формуле  $S = a \cdot c / b$ , где  $a$  – масса контура листа, г;  $b$  – масса квадрата бумаги, г;  $c$  – площадь квадрата бумаги,  $\text{см}^2$ .

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.

### 9.2.2 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 срезают листья и взвешивают. Затем из каждого листа пробочным сверлом определенного диаметра выбирают несколько высечек, объединяют их и взвешивают. Площадь исследуемого листа находят 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,  $\text{см}^2$ .

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

## **Лабораторная работа 9.3 Влияние внешних условий на интенсивность фотосинтеза водного растения**

Для определения интенсивности фотосинтеза водных растений можно использовать метод счета пузырьков кислорода. На свету в листьях происходит процесс фотосинтеза, продуктом которого является кислород, накапливающийся в межклетниках. При срезании стебля избыток газа начинает выделяться в виде непрерывного тока пузырьков, быстрота образования которых зависит от интенсивности фотосинтеза. Данный метод не отличается большой точностью, но зато очень прост и дает наглядное представление о тесной зависимости процесса фотосинтеза от внешних условий.

*Цель работы:* выявить зависимость интенсивности фотосинтеза от внешних условий.

*Материалы и оборудование:* пробирка, стакан на 400 – 600 мл для теплового экрана, стеклянная палочка, пинцет, электрическая лампа, термометр, линейка, 0,5 % раствор  $\text{NaHCO}_3$ , 1 % раствор  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , серно-аммиачно-медная соль (4 % раствор медного купороса, насыщенный аммиаком).

*Растения:* элодея канадская.

*Ход работы:*

Выбирают здоровое растение элодеи. Под водой пинцетом обламывают веточку длиной 3–4 см с верхушечной почкой и помещают в пробирку с водой, обогащенной  $\text{CO}_2$  с помощью 0,5 % раствора пищевой соды. Элодею помещают в пробирку верхушкой вниз, так, чтобы свежесрезанный кончик ветки был на 5 см ниже поверхности воды. Пробирку с веточкой помещают во внешний стакан с температурой воды 27 °С. Слой воды служит тепловым фильтром.

Из свежесрезанного побега, помещенного на свет, начинают выделяться пузырьки газа – происходит фотосинтез. Если пузырьки крупные и поступают редко, то нужно слегка придавить кончик среза пинцетом или слегка прижать его стеклянной палочкой к стенке пробирки. Это изменит величину пузырьков и скорость их выделения. Иногда полезно обновить срез.

**9.3.1 Влияние освещенности.** Веточку элодеи помещают сначала под лампу, а затем отодвигают на расстояние 5, 15, 25, 50 и 100 см. Величина освещенности при этом меняется пропорционально квадрату расстояния от лампы. Показателем интенсивности фотосинтеза служит количество пузырьков, выделяющихся за 1 минуту. Счет пу-

зырьков повторяют трижды. Для каждого расстояния берут среднее из трех отсчетов.

*Задание:* описать ход работы, посчитать среднее число пузырьков, которые выделяются за 1 мин на разном расстоянии от лампы, сделать выводы.

**9.3.2 Влияние спектрального состава света.** Подсчитывают количество пузырьков при освещении белым светом (пробирка погружена в стакан с водой). Затем проводят наблюдения при красном экране, заменяя воду в наружном стакане раствором 1 %  $K_2Cr_2O_7$ , который пропускает красные, оранжевые и желтые лучи и не пропускает сине-фиолетовые. Определяют интенсивность фотосинтеза на синем экране, наливая в наружный стакан раствор серно-аммиачно-медной соли, пропускающий голубые, синие и фиолетовые лучи, но задерживающий длинноволновую часть спектра. Все три наблюдения проводят с жидкостями одинаковой температуры и на одном расстоянии от источника света.

*Задание:* описать ход работы, посчитать среднее число пузырьков, которые выделяются за 1 мин при освещении длинноволновым и коротковолновым светом, сделать выводы.

**9.3.3 Влияние температуры.** В наружный стакан наливают воду различной температуры – 30 °С, 25 °С, 20 °С и 15 °С. Проводят отсчеты при одинаковом расстоянии от источника света.

*Задание:* описать ход работы, посчитать среднее число пузырьков, которые выделяются за 1 мин при воздействии на растение различных температур, сделать выводы.

## ЛИТЕРАТУРА

- 1 Физиология растений: учеб. пособие / В.М. Юрин. – Мн., 2010. – 455 с.
- 2 Физиология растений: учебник / Вл.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М., 2006. – 742 с.
- 3 Физиология растений: учебник / под ред. И.П. Ермакова. – М., 2005. – 640 с.
- 4 Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений: учебник / под ред. Н.Н. Третьякова. – М., 2005. – 655 с.
- 5 Физиология растений / В.В. Полевой. – М.: Высшая школа, 2006. - 464 с.
- 6 Физиология растений: учеб. пособие / Н.И. Якушкина. – М., 2005. – 464 с.
- 7 Физиология растений: учебник / С.С. Медведев. – СПб.: СПб. ун-т, 2004. – 336 с.
- 8 Физиология растений: учебник для вузов по направлению «Лесное дело» / А. В. Веретенников. – М., 2006. – 479 с.
- 9 Физиология растений с основами микробиологии / Н.В. Пильщикова. – М.: Мир, 2004. – 184 с.
- 10 Физиология древесных растений / П.Д. Крамер, Т.Т. Козловский. – М.: Лесн. пром-сть, 1983. – 464 с.
- 11 Физиология древесных растений / Х. Лир, Г. Польстер, Г.И. Фидлер. – М.: Лесн. пром-сть, 1983. – 424 с.
- 12 Биохимия растений: учебник / В.В. Рогожин. – СПб.: ГИОРД, 2012. - 432 с.
- 13 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.
- 14 Биохимия сельскохозяйственных растений / Б.П. Плешков. – М.: Агропромиздат, 2007. - 494 с.
- 15 Практикум по физиологии древесных растений: учебное пособие / В.А. Крючков, И.К. Булатова. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2006. – 248 с.
- 16 Малый практикум по физиологии растений: учебное пособие для биол. спец. вузов / Д.П. Викторов. – М.: Высшая школа, 1983. – 135 с.

17 Практикум по физиологии растений: учебное пособие для студ. высших пед. учеб. заведений / В.Б. Иванов, [и др.]. – М.: Академия, 2004. – 144 с.

18 Малый практикум по физиологии растений: учебное пособие / под ред. А.Т. Мокроносова. – М.: Изд-во МГУ, 1994. – 184 с.

19 Практикум по физиологии растений / Н.Н. Третьяков, Т.В. Карнаухов, Л.А. Паничкин [и др.] ; под общ. ред. Н.Н. Третьякова. – М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с.

20 Фотосинтез: методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов / Л.В. Кахнович. – Мн.: БГУ, 2003. – 88 с.

21 Практикум по физиологии растений: учебно-методическое пособие / В.Н. Воробьев [и др.]. – Казань: Казанский университет, 2013. – 80 с.

22 Физиология растений: учебное пособие / О.Л. Воскресенская, Н.П. Грошева, Е.А. Скочилова. – Йошкар-Ола: Мар. гос. ун-т, 2008. – 148 с.

23 Большой практикум по фотосинтезу / В.Ф. Гавриленко, Т.В. Жигалова. – М.: Академия, 2006. – 256 с.

24 Физиология дыхания растений: учебное пособие / О.А. Семихатова, Т.В. Чиркова. – СПб: СПб ун-т, 2001. – 220 с.

25 Биохимия растений: метод. рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самост. работы студентов / Г.Г. Филипцова, И.И. Смолич.– Мн.: БГУ, 2004.– 60 с.

26 Минеральное питание растений: метод. рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самост. работы студентов / С.Н. Найдун, В.М. Юрин.– Мн.: БГУ, 2004.– 47 с.

27 Фитофизиология стресса: Методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов / О.Г. Яковец.– Мн.: БГУ, 2011.– 50 с.

28 Физиологические и биохимические методы анализа растений: практикум / Г.Н. Чупахина.– Калининград: Калинингр. ун-т, 2000. – 59 с.

29 Физиология и биохимия растений: методические указания по изучению дисциплины и задания контрольных тестов. Для студентов заочной формы обучения по специальности «Агрономия» / С.А. Тарасенко, Е.И. Дорошкевич, Н.И. Тара-сенко, С.В. Брилева. – Гродно: ГГАУ, 2011 – 46 с.

*Учебное издание*

**Храмченкова Ольга Михайловна**

# **ПРАКТИКУМ ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**

## **Часть 1**

Практическое руководство  
для студентов специальности 1-31 01 01-02  
«Биология (научно-педагогическая деятельность)»