

Министерство образования и науки РФ
ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»
Институт естественных наук
Кафедра ботаники и экологии растений

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ:
лабораторный практикум с заданиями для контроля
и самоконтроля студентов

Ижевск
2017

УДК 581.1 (075.8)
ББК 28.573я73
Ф504

Рекомендовано к изданию учебно-методическим советом УдГУ.
Рецензент доктор сельскохозяйственных наук А.В. Федоров
Составитель – к.б.н. Н.Г. Зыкина

Ф504 Физиология растений: лабораторный практикум с заданиями для контроля и самоконтроля студентов./ Сост. Н.Г. Зыкина. Ижевск: Изд-во «Удмуртский университет», 2017. 120 с.

Учебно-методическое пособие предназначено для выполнения лабораторных исследований, контроля и самостоятельной работы студентов в рамках дисциплины «Физиология растений». Пособие включает 5 разделов с лабораторными работами, задачами, заданиями и упражнениями, посвященными исследованию различных физиологических процессов в растениях. Составлено для студентов направления подготовки бакалавров 06.03.01. «Биология».

УДК 581.1 (075.8)
ББК 28.573я73

© Н.Г. Зыкина, сост., 2017
© Изд-во «Удмуртский университет», 2017

Содержание

	стр.
Введение	5
Раздел 1. ВОДНЫЙ ОБМЕН	7
Работа 1. Растительная клетка как осмотическая система. Плазмолиз	8
Работа 2. Растительная клетка как осмотическая система. Проницаемость клеточных мембран	13
Работа 3. Определение потенциального осмотического давления клеточного сока методом плазмолиза (по де-Фризу)	19
Работа 4. Влияние оводненности замыкающих клеток на движение устьиц под микроскопом	24
Задания для контроля и самоконтроля	27
Вопросы к коллоквиуму	33
Раздел 2. ФОТОСИНТЕЗ	34
Работа 5. Физико-химические свойства пигментов зеленого листа	36
Работа 6. Изучение условий фотосинтетической работы хлорофилла и образования продуктов ассимиляции углерода	49
Работа 7. Влияние условий внешней среды на интенсивность фотосинтеза водного растения (метод счета пузырьков)	58
Задания для контроля и самоконтроля	63
Вопросы к коллоквиуму	66
Раздел 3. ДЫХАНИЕ	67
Работа 8. Изучение работы фермента амилазы	69
Работа 9. Превращение запасных веществ при прорастании семян	76
Задания для контроля и самоконтроля	81
Вопросы к коллоквиуму	84
Раздел 4. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ	85
Работа 10. Антагонизм ионов	86

Работа 11. Изучение корневой системы растений как органа поглощения минеральных веществ	91
Задания для контроля и самоконтроля	100
Вопросы к коллоквиуму	102
Раздел 5. РОСТ И РАЗВИТИЕ	103
Работа 12. Наблюдение периодичности роста древесных растений	104
Работа 13. Изучение некоторых фитометрических параметров растений	107
Задания для контроля и самоконтроля	111
Список литературы	113
Приложение 1. Методика подготовки материалов для проведения лабораторных работ	114
Приложение 2. Список необходимых для занятий реактивов и материалов	119

ВВЕДЕНИЕ

Физиология растений – это наука о процессах, происходящих в растительном организме. Задача физиологии растений – раскрытие сущности этих процессов, установление их взаимосвязи и изменение под влиянием среды. Для понимания физиологических процессов огромное значение имеет экспериментальная работа. При этом можно рассматривать функционирование как отдельной растительной клетки, так и растения в целом. Курс «Физиология растений» является ключевой дисциплиной в образовательной программе по направлению «Биология». Он способствует формированию у студента целостного представления о функционировании живого организма и обобщает данные ботаники, биохимии и экологии растений.

Данное учебно-методическое пособие составлено на основе практикума Т.Б. Киреевой (1994). Изменение программы, в связи с переходом на бакалавриат, уменьшение количества аудиторных часов и увеличение роли самостоятельной работы, компетентностный подход обусловили необходимость издания нового пособия. Работы, собранные в нем позволяют изучить закономерности основных физиологических процессов, происходящих в растениях. В связи с этим, в практикуме выделено пять разделов: Водный обмен, Фотосинтез, Дыхание, Минеральное питание и Рост и развитие.

Большинство работ запланировано на работу студентов в микрогруппах (2 чел), однако часть экспериментов предполагает работу как индивидуальную, так и всей подгруппы с последующим обобщением результатов. Большая часть работ рассчитана на 2-х часовое занятие. При изучении минерального питания растений эксперимент ставится на одном занятии, а результаты его снимаются через неделю.

Для лабораторной работы кратко дается теоретическое обоснование эксперимента, представлен план его выполнения, перечислены необходимые материалы и реактивы. Допуском к выполнению лабораторной работы является предварительное ее оформление в специальной тетради (название работы, цель, объ-

ект исследования, краткое описание хода работы). Результаты исследования фиксируются в виде расчетов, таблиц, рисунков, графиков и выводов. Обязательна сдача теоретической части касающейся проводимого эксперимента (вопросы представлены в конце работы). Каждый студент обязательно должен выполнить все лабораторные занятия по курсу.

В процессе выполнения лабораторных исследований студенты получают и закрепляют важные навыки и умения экспериментальной работы. При этом каждый раздел обязательно завершается теоретическим занятием (коллоквиумом) с подведением итогов по пройденному материалу. Вопросы к итоговому занятию приведены в конце каждого раздела. Дополнительно для контроля и самоконтроля освоения материала в каждом разделе даны задания и задачи по изучаемому блоку материала. В практикуме приведены рисунки и схемы, которые позволяют закрепить полученные данные, выделить ключевые этапы рассматриваемых процессов. Все это позволяет обеспечить формирование у студентов компетенции ОПК-4: способность применять принципы структурной и функциональной организации биологических объектов и владеть знанием механизмов гомеостатической регуляции; владеть основными физиологическими методами анализа и оценки состояния живых систем.

Для выполнения экспериментальных работ по физиологии растений необходимо приготовление реактивов и растительного сырья, поэтому в помощь лаборанту для каждого занятия приведен соответствующий список. Материалы и оборудование для всей подгруппы (А) и необходимый набор для каждого рабочего стола из расчета на двух студентов (Б). В приложении приведены рецепты приготовления необходимых растворов и материалов.

РАЗДЕЛ 1. ВОДНЫЙ ОБМЕН

В жизнедеятельности растений огромное значение играет вода, с ее участием протекают все процессы обмена веществ. Содержание воды влияет на концентрацию клеточного сока, величину осмотического давления, водный потенциал клеток. Снижение оводненности тканей изменяет состояние биомембран клеток, что приводит к повреждению тонкой структуры протопласта и нарушению обмена веществ: изменяется интенсивность фотосинтеза, дыхания и других процессов.

Водный ток обеспечивает связь между отдельными органами растений. Питательные вещества передвигаются по растению в растворенном виде. Насыщенность водой (тургор) обеспечивает прочность тканей, сохранение структуры травянистых растений, определенную ориентировку органов растений в пространстве. Рост клеток в фазе растяжения идет главным образом за счет накопления воды в вакуоли. Таким образом, вода обеспечивает протекание процессов обмена, коррелятивные взаимодействия между отдельными органами, связь организма со средой. Нормальное развитие растений возможно только при высокой водообеспеченности клеток.

К единицам измерения водного режима относятся:

Интенсивность транспирации – это количество воды, испаряемой растением (в г) за единицу времени (ч) единицей поверхности листа (в дм^2 или м^2). Эта величина колеблется в пределах 0,15 - 1,47 г/ $\text{дм}^2/\text{ч}$.

Транспирационный коэффициент – количество воды (в мл), испаряемой растением при накоплении им 1 г сухого вещества. Транспирационные коэффициенты заметно колеблются у одного и того же растения в зависимости от условий среды, и все же в некоторой степени они могут служить показателем требований растений к влаге.

Продуктивность транспирации – величина, обратная транспирационному коэффициенту, – это количество сухого вещества (в г), накопленного растением за период, когда оно испаряет 1 кг (литр) воды.

Работа 1. Растительная клетка как осмотическая система. Плазмолиз

Реактивы: 1 М раствор сахарозы, раствор нейтрального красного (1: 1000) на дистиллированной воде (см. прил. 1), дистиллированная вода.

Материалы и оборудование: А. Колба с красителем, мерный химический стаканчик на 100 мл, стеклянная палочка, тарелки (2 шт.), стеклянный маленький кристаллизатор, нож или скальпель, полоски фильтровальной бумаги.

Б. Микроскопы (2 шт.), бокс без крышки для красителя, лезвия бритвы (2 шт.), препарированные иглы (2 шт.), пинцеты (2 шт.), стеклянные палочки (2 шт.). Предметные и покровные стекла (по 4 шт.), часовое стекло, глазные пипетки (2 шт.), подписанные боксы с притертыми крышками для растворов и воды (3 шт.), цветные карандаши, линейки (2 шт.).

Растительная клетка является саморегулирующейся осмотической системой. Роль осмотически деятельного раствора в ней выполняет клеточный сок. Роль полупроницаемой мембраны выполняют совокупность плазмалеммы, цитоплазмы и тонопласта. Мембраны клетки обеспечивают регуляцию поглощения и выделения веществ, в большинстве случаев этот процесс идет с затратой энергии. Передвижение воды через мембрану определяется концентрацией осмотически активных веществ во внешнем растворе и в клеточном соке. Односторонняя диффузия молекул растворителя (воды) через полупроницаемую мембрану называется *осмосом*. Осмотическое движение воды является пассивным процессом, не требующим затраты энергии.

Для физиологически активной клетки типично состояние высокой водообеспеченности, когда клеточная стенка находится в напряженном состоянии (тургоре). При потере воды, происходит потеря тургора, постепенно уменьшается объем клетки, после чего начинается плазмолиз. *Плазмолиз* – это процесс отставания протопласта от клеточной стенки в результате диффузирования воды из вакуоли, при погружении клетки в гипертони-

ческий раствор (то есть концентрация этого раствора больше концентрации клеточного сока). Выход воды из клеток будет происходить до выравнивания осмотических показателей клеточного сока и наружного раствора.

Протоплазма обладает жидко-вязкой консистенцией, поэтому при плазмолизе, подчиняясь силам поверхностного натяжения, она стремится принять сферическую форму. Но отставание протопласта в ходе плазмолиза и его округление происходят постепенно, так как силы сцепления пограничного слоя плазмы с оболочкой и вязкость цитоплазмы очень велики. Изменение объема клетки на разных этапах плазмолиза представлено на рис. 1.

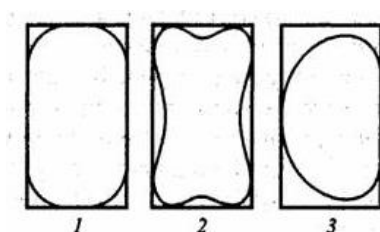


Рис. 1. Схема этапов отделения протопласта от клеточной стенки при плазмолизе.

Сначала наблюдается едва заметное отделение протопласта в уголках оболочки – это уголковый (начальный или пограничный) плазмолиз (№ 1, рис. 1), переходящий затем вогнутый (№ 2, рис. 1). Если вогнутый плазмолиз выражен чрезмерно, то говорят о судорожном плазмолизе. Наличие длительного судорожного плазмолиза всегда указывает на очень сильную связь протопласта с оболочкой и на высокую степень вязкости протоплазмы.

Позже наступает форма плазмолиза, дающая округлые протопласты, которая называется выпуклым плазмолизом (№ 3, рис. 1). В сильно вытянутых клетках протопласт распадается в процессе плазмолитизирования на округлые части, которые в большинстве случаев остаются соединенными друг с другом

тонкими плазматическими нитями. Такой плазмолиз также можно назвать выпуклым.

Временем плазмолиза называют промежуток между моментом помещения живых клеток в плазмолитик и возникновением выпуклых форм плазмолиза не менее чем у половины клеток в поле зрения. Это время для клеток разных тканей бывает различным: оно колеблется от нуля до «бесконечности», то есть когда выпуклый плазмолиз совсем не наступает (это зависит от вязкости цитоплазмы).

По отсутствию плазмолиза у клетки в гипертоническом растворе можно установить ее гибель в результате нарушения структуры мембран.

Процесс исчезновения плазмолиза и возвращение клетки в состояние тургора в результате всасывания воды плазмолизированной клеткой, погруженной в воду или в гипотонический раствор (концентрация у которого меньше, чем у клеточного сока), называется ***деплазмолизом***.

Цель работы: Получить представление о динамичности структуры и состояния протоплазмы. Убедиться, что плазмолиз, свойственный только живым клеткам, явление обратимое.

Объект: Лук обыкновенный (луковица)

Ход работы:

1. Предварительно окрашенный нейтральным красным срез нижнего эпидермиса чешуи лука или срезы окрашенных сортов лука (красный) поместить в каплю воды на предметном стекле. Техника приготовления срезов и их прижизненного окрашивания приведена в прил. 1 (п. 3 и 4). Срез накрыть покровным стеклом и рассмотреть в микроскоп при малом увеличении.
2. Заменить воду на плазмолитик. Для этого на предметное стекло справа стороны от покровного нанести большую каплю раствора 1 М сахарозы, а с противоположной стороны, не сдвигая препарата, с помощью кусочков фильтровальной бумаги отсосать воду из-под покровного стекла. Повторить 2 - 3 раза до

полной замены воды раствором плазмолитика под покровным стеклом.

3. С момента проникновения под покровное стекло плазмолитика отметить время погружения клеток в гипертонический раствор для определения времени плазмолиза (табл. 1).

Таблица 1

	Внешний раствор, его концентрация	Время плазмолиза/деплазмолиза, мин.			Среднее время процесса
		1	2	3	
Плазмолиз					
Деплазмолиз					

4. Наблюдение в микроскоп вести непрерывно. Проследить за последовательностью смены форм плазмолиза. Зарисовать схематично все стадии, подписать рисунки. Отметить структуры клетки, обуславливающей ее осмотические свойства.

5. Отметить время наступления выпуклого плазмолиза у большинства клеток в поле зрения. Определить время плазмолиза. Следует обратить внимание на то, что вблизи раневых краев среза время плазмолиза значительно сокращается.

6. Заменить раствор плазмолитика вновь на дистиллированную воду, медленно оттягивать его из-под покровного стекла полоской фильтровальной бумаги и вводя одновременно с противоположной стороны воду. Наблюдать за явлением деплазмолиза. Определить время деплазмолиза.

Результаты опыта записать в табл. 1. Сделать выводы о свойствах цитоплазмы и мембран клетки.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. Какие особенности строения характерны только для растительной клетки? 2. Структура элементарной мембраны? 3. Почему растительная клетка является осмотической системой? 4. Что такое плазмолиз и при каких условиях он наблюдается? 5. Какие свойства мембран живой клетки обуславливают явление плазмолиза? 6. Чем занято про-

странство между клеточной стенкой и сморщенным протопластом в плазмолизированных клетках? 7. Какие существуют формы плазмолиза и как они изменяются во времени? Что такое время плазмолиза? 8. Способны ли плазмолизировать мертвые клетки? 9. Что такое тургор?

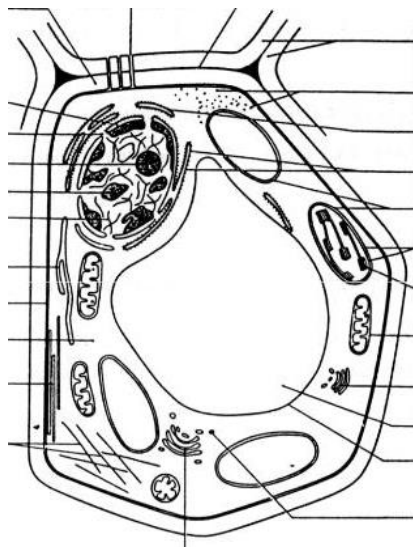


Рис. 2. Строение растительной клетки.

Работа 2. Растительная клетка как осмотическая система. Проницаемость клеточных мембран

Реактивы: Раствор нейтрального красного (1:1000) на дистиллированной воде, 1 М раствор KNO_3 , 0,7 М раствор $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$; 1,5 М раствор сахарозы, дистиллированная вода.

Материалы и оборудование:

А. Колба с красителем, мерный химический стаканчик на 100 мл, стеклянная палочка, нож или скальпель, тарелки (2 шт.), маленький стеклянный кристаллизатор, эмалированный поднос, кусочки фильтровальной бумаги.

Б. Микроскопы (2 шт.), бюкс без крышки для красителя, лезвия бритвы (2 шт.), препаровальные иглы (2шт.), пинцеты (2 шт.), стеклянные палочки (2 шт.), предметные и покровные стекла (по 4 шт., подписанные бюксы с притертыми крышками для растворов (3 шт.), часовое стекло, колба с водой, цветные карандаши, линейки (2 шт.).

Обмен веществ в клетке может совершаться упорядоченно только при определенной структурной организации протоплазмы – основного содержимого любой живой клетки, которая с физико-химической точки зрения является сложной гетерогенной коллоидной системой, характеризующейся такими свойствами и признаками, как вязкость, движение, концентрация водородных ионов и величина изоэлектрической точки. Состав и состояние протоплазменных структур при всей их сложности лабилен и динамичен.

Цитоплазме, основу которой составляют глобулярные белки, свойственна структурная вязкость, которая характеризует силы сцепления между биокolloидами (количество и прочность связей между ними). Коллоидно-химические изменения являются ведущими в процессах жизнедеятельности клетки. Вязкость протоплазмы может быстро измениться от очень низкой (когда она близка к вязкости воды) до очень высокой (когда жидкая протоплазма переходит в гель) и это является точным показателем изменений состояния гидрофильных коллоидов. При этом

физиологическая активность клетки тесно связана с сохранением нативного состояния белков, определяющего их биологическую активность. Таким образом, вязкость протоплазмы является одним из чувствительных показателей физиологического состояния клеток.

Определение вязкости является очень важным моментом при исследовании разнообразных физиологических проблем, так как она имеет большое приспособительное значение в жизни растений. Она зависит от внутренних факторов, видовых особенностей растения, характера экотипа, может быть различной в разных органах, изменяется в процессе митоза, при возрастных изменениях в ходе роста и развития, под действием внешних факторов (температура, освещение, водный режим, минеральное питание). Например, способность клеток растения противостоять повреждающему воздействию высоких температур связана с высокой вязкостью и эластичностью протоплазмы, это может служить диагностическим признаком при экологической характеристике видов и сортов растений относительно их засухоустойчивости и жароустойчивости (чем больше вязкость, тем выше засухо- и жароустойчивость растений).

Особенно наглядные результаты получаются при исследовании влияния минеральных элементов на вязкость протоплазмы, так как различные катионы и анионы оказывают специфическое и многообразное действие на цитоплазму, в частности, на набухание и вязкость коллоидов. Одни ионы, как правило, двухвалентные, образуя дополнительные точки скрепления между молекулами белков, повышают вязкость цитоплазмы; другие (одновалентные), напротив, увеличивают дисперсность коллоидов цитоплазмы, оводняют, разжижают ее. В частности, такие жизненно важные элементы, как К и Са, являясь антагонистами, оказывают противоположное действие на гидрофильные коллоиды протоплазмы.

Существует несколько методов определения вязкости цитоплазмы. Одним из наиболее простых и наглядных является определение вязкости по времени и форме плазмолиза.

Форма протопласта при отделении от клеточных стенок в растворах плазмолитиков зависит от степени вязкости протоплазмы.

Плазмолиз всегда сначала протекает по типу вогнутого, но в дальнейшем эта форма либо сохраняется, либо с разной скоростью переходит в выпуклую форму. Если вязкость низкая, протопласт быстро приобретает округлую форму, наступает выпуклый плазмолиз. При более высокой вязкости поверхность протопласта при плазмоллизе принимает вогнутую форму. При очень высокой вязкости цитоплазмы происходит судорожный плазмолиз. Показателем вязкости служит и время плазмоллиза: чем вязкость меньше, тем быстрее наступает выпуклый плазмолиз. Например, если у мезофитов выпуклый плазмолиз наступает в пределах 20 - 40 мин., то у суккулентов – через 3 - 8 час.

При продолжительном плазмоллизе в гипертоническом растворе одной из солей калия, хорошо проникающего через плазмалемму, но не проникающего или проходящего очень медленно через тонопласт, происходит накопление K^+ в цитоплазме. Это вызывает изменение ее структуры и сильное набухание (вследствие гидратации коллоидов), она становится хорошо видна в виде резко очерченных колпачков на противоположных полюсах вакуоли плазмоллизированного протопласта. Это явление называется **выпуклым колпачковым плазмоллизом**, при котором обе мембраны выделяются совершенно ровными контурами, а увеличившаяся в объеме цитоплазма внутри колпачков кажется стекловидной (№ 5а на рис. 3). О малой проницаемости тонопласта для ионов можно судить по отсутствию увеличения объема вакуоли.

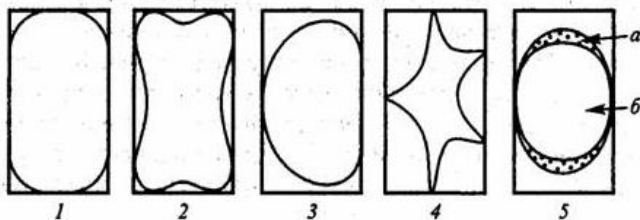


Рис. 3. Формы плазмоллиза.

Данный эксперимент наглядно демонстрирует различия в избирательной проницаемости двух поверхностных мембран растительной клетки. Соли двухвалентных катионов не вызывают колпачкового плазмолиза.

Цель работы: Получить представление о физиологических особенностях плазмалеммы, цитоплазмы и тонопласта. Установить зависимость между вязкостью цитоплазмы и формой (временем) плазмолиза. Изучить действие ионов K^+ и Ca^{2+} на вязкость цитоплазмы путем прямого плазмолиза.

Объект: Лук обыкновенный (луковица)

Ход работы:

1. Приготовить окрашенные срезы нижнего эпидермиса чешуи лука (6 - 8 шт.) (см. прил. 1) или срезы окрашенных сортов лука (красный).
2. Окрашенные срезы, перенести поровну в бюксы с раствором 1 М KNO_3 ; 0,7 М $Ca(NO_3)_2$ закрыть крышками. Отметить время начала опыта.
3. Через 20 мин. перенести по одному срезу на предметные стекла в капли соответствующих растворов плазмолитиков и закрыть покровными стеклами. Рассмотреть препараты в микроскоп при малом увеличении.
4. Отметить форму плазмолиза, характерную для большинства клеток среза в каждом из растворов (при этом не следует принимать во внимание периферическую раневую зону, так как свойства цитоплазмы клеток могут быть изменены вследствие механического раздражения, и поэтому данные клетки дают выпуклые формы плазмолиза раньше, чем клетки в середине среза). Зарисовать схематично наиболее характерные клетки в соответствующие колонки табл. 2.
5. Аналогично исследовать препараты через час после начала опыта. Для этого взять другие срезы, находящиеся в растворах плазмолитиков более часа. При этом исследовании срезов из раствора 1 М KNO_3 , (то есть через 1 - 1,5 часа после начала опыта) постараться обнаружить в ряде клеток, особенно на краях

среза, так называемый колпачковый плазмолиз. Зарисовать эту форму плазмолиза, отметив обе пограничные мембраны, вакуоль, мезоплазму и клеточную стенку.

Таблица 2

Раствор плазмолитика	Форма плазмолиза (рисунок клетки)	
	Через 20 мин.	Через 60 мин.
1 М KNO_3 ,		
0,7 М $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$		

6. Провести сравнительный анализ зависимости относительной вязкости протоплазмы от действия катиона определенного металла по форме плазмолиза. Результаты записать по форме (табл. 3).

Таблица 3

Катион	Характер воздействия на степень гидратации коллоидов протоплазмы	Время наступления выпуклого плазмолиза, мин.	Форма плазмолиза через час	Характер из- менения отно- сительной вяз- кости прото- плазмы
K^+				
Ca^{2+}				

На основе полученных данных сделать вывод о свойствах цитоплазмы, проницаемости ее мембран, о влиянии различных катионов на вязкость цитоплазмы.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. Какой катион способствует повышению степени гидратации коллоидов и соответственно понижает вязкость протоплазмы, какая форма плазмолиза свидетельствует о разжижающем действии иона? 2. Какой

катион дегидратирует коллоиды и повышает вязкость протоплазмы? 3. Какие свойства растительной клетки проявляются при колпачковом плазмолизе? 4. Какая из поверхностных мембран растительной клетки обладает большей проницаемостью для ионов и как это доказать? 5. Каковы отличительные особенности активного и пассивного транспорта веществ?

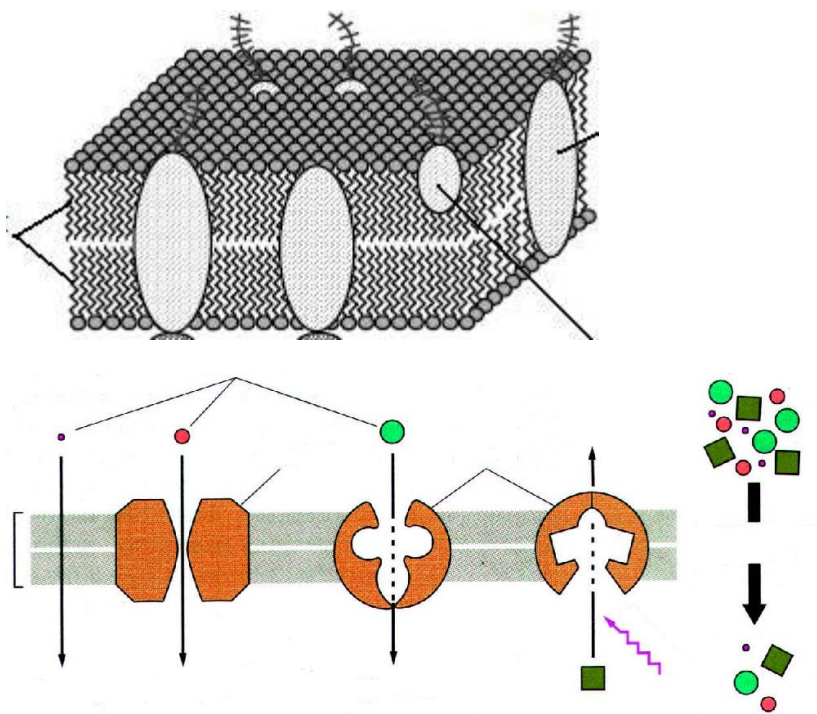


Рис. 4. Строение и транспорт веществ через мембраны растительной клетки.

Работа 3. Определение потенциального осмотического давления клеточного сока методом плазмолиза (по де-Фризу)

Реактивы: 1 М раствор сахарозы или 1 М раствор NaCl, раствор нейтрального красного (1: 1000) (см. прил. 1), дистиллированная вода.

Материалы и оборудование: А. Колба с красителем, мерный химический стаканчик на 100 мл, стеклянная палочка, эмалированный поднос, тарелки (2 шт.), стеклянный маленький кристаллизатор, нож или скальпель, полоски фильтровальной бумаги, комнатный термометр.

Б. Микроскопы (2 шт.), бюкс без крышки для красителя, лезвия бритвы (2 шт.), препарированные иглы (2 шт.), пинцеты (2 шт.), стеклянные палочки (2 шт.). Предметные и покровные стекла (по 4 шт.), подписанные бюксы с притертыми крышками (9 шт.) с уже налитыми растворами плазмолитика соответствующих концентрации, часовое стекло, колба с водой, линейки (2 шт.). Если растворы плазмолитика студенты готовят самостоятельно, то приготовить градуированные пипетки на 10 мл (2 шт.).

Сформировавшиеся растительные клетки имеют большую вакуоль, содержащую водный раствор различных органических и минеральных веществ. От их концентрации и степени диссоциации молекул зависит осмотическое давление клеточного сока. Оно различно у разных растений. У древесных пород оно выше, чем у кустарников, а у кустарников выше, чем у травянистых растений. Разные экологические группы различаются по величине осмотического давления. У растений пустынь осмотическое давление больше, чем у степных растений. У степных — больше, чем у луговых. Еще меньше осмотическое давление у растений болотных и водных местообитаний. У светолюбивых растений осмотическое давление больше, чем у теневыносливых.

Растение в определенной степени регулирует величину осмотического давления. Ферментативное превращение сложных нерастворимых веществ в растворимые (крахмала в сахара,

белков в аминокислоты) приводит к возрастанию концентрации клеточного сока и повышению осмотического давления.

Давление, которое способен развивать раствор, всасывая воду через полупроницаемую мембрану, называется осмотическим. Величина этого давления, характеризующая максимальную потенциальную сосущую силу клетки, прямо пропорциональна молярной концентрации осмотически активных веществ в растворе (то есть числу частиц (молекул, ионов) в единицы объема) и абсолютной температуре.

Вант–Гофф установил, что осмотическое давление очень разбавленных растворов подчиняется газовым законам:

$$P = R \cdot C \cdot T \cdot i, \text{ атм}^*,$$

где **R** - газовая постоянная (0,0821 л*атм./град.*моль);

T - абсолютная температура ($273^\circ + t^\circ \text{C}$ комнатная);

C - изотоническая концентрация в молях;

i - изотонический коэффициент Вант–Гоффа, характеризующий ионизацию растворов, который зависит от степени диссоциации от числа ионов, на которые диссоциирует молекулы (табл. 4). Для неэлектролитов (напр., сахара) **i** равен 1.

Таблица 4

Изотонический коэффициент растворов NaCl

Концентрация NaCl, М	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6
i	1,62	1,63	1,64	1,66	1,68
Концентрация NaCl, М	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
i	1,70	1,73	1,75	1,78	1,83

Величина осмотического давления клеточного сока характеризует устойчивость растений к почвенной засухе. Повышение этого показателя является критерием обезвоживания растений и необходимости полива.

При определении осмотического давления клеточного сока растительной клетки критерием служит начинающийся плазмолиз (тургорного противодавления (Т) нет) в условиях динамического равновесия:

$$S_{\text{кл}} = S_{\text{р-ра}};$$

$$\text{а } S_{\text{кл}} = P_{\text{кл}} - T_{\text{кл}}$$

$$\text{если } T_{\text{кл}} = 0, S_{\text{кл}} = P_{\text{кл}} \Rightarrow S_{\text{р-ра}} = P_{\text{р-ра}} \Rightarrow P_{\text{кл}} = P_{\text{р-ра}}$$

Данный метод основан на поиске таких пограничных концентраций наружного раствора, один из которых называют начальной уголкового плазмолиза, а следующий (менее концентрированный) не вызывает плазмолиза. Концентрация **изотонического раствора** (раствор, осмотическое давление которого равно осмотическому давлению клеточного сока), с известной долей погрешности, равна среднему арифметическому между концентрациями этих пограничных растворов. Но при этом надо помнить, что нельзя делать заключение о наличии плазмолиза на основании наблюдения нескольких клеток. Вследствие больших индивидуальных отклонений осмотических свойств клеток необходимо под микроскопом рассмотреть несколько полей зрения.

Цель работы: Освоить метод и определить осмотическое давление клеток луковицы лука.

Объект: Лук обыкновенный (луковица).

Ход работы:

1. В подписанной стеклянные бюксы налить по 10 мл 0,9; 0,8; 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 М раствора сахарозы или NaCl, приготовленных путем разбавления исходного 1 М раствора дистиллированной водой, отмеривая нужные объемы раствора и воды пипетками (табл. 5). Растворы очень тщательно перемешать. Бюксы все время держать закрытыми, чтобы предотвратить испарение. Поставить их в ряд по убывающей концентрации растворов.
2. При помощи лезвия бритвы приготовить не менее 27 шт. тонких срезов нижнего эпидермиса чешуи лука из средней части. Если используется неокрашенный сорт лука, то окрасить срезы нейтральным красным (см. прил. 1).

3. Затем сразу же поместить срезы по 3 шт. в каждый из бюксов с растворами, начиная с высокой концентрации. При этом необходимо проследить, чтобы срезы не плавали на поверхности, а были погружены в растворы (их следует «утопить» при помощи препарированной иглы). Записать время начала опыта. Необходимым условием является одинаковая продолжительность нахождения срезов в растворах.

Таблица 5

Количество мл на 10 мл раствора	Концентрация растворов плазмолитика, М								
	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Дистиллированной воды	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 М раствора сахара-зы или 1М раствора NaCl	9	8	7	6	5	4	3	2	1

4. Через 20-30 мин. после погружения последовательно, начиная с самого высокой концентрации, срезы перевести на предметное стекло в капли соответствующих растворов, то есть из того же бюкса, где находится каждый срез, и, накрыв покровным стеклом, исследовать под микроскопом при малом увеличении.

Внимание! Стекланную палочку, которой наносится капля раствора на предметное стекло, после каждого плазмолитика необходимо ополаскивать водой и тщательно вытирать фильтровальной бумагой.

5. Определить степень и форму плазмолиза клеток исследуемой ткани в каждом растворе, обязательно посмотрев под микроскопом все клетки срезов. Результаты зарисовать в табл. 6. Найти два пограничных раствора, в одном из которых еще нет плазмолиза, а в следующем уже наблюдается начальный (уголковый) плазмолиз не менее чем у 50% клеток среза.

6. Найти изотоническую концентрацию как среднее арифметическое между концентрациями этих двух растворов.

7. Зная изотоническую концентрацию наружного раствора, рассчитать величину потенциального осмотического давления (P) по формуле Вант-Гоффа (см. выше).

Таблица 6

	Концентрация растворов плазмолитика, М								
	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Схематический рисунок характерной клетки									
Степень и форма плазмолиза большинства клеток среза									
Изотоническая концентрация, М									

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. Какова физическая природа процессов диффузии и осмоса? 2. Какие растворы называются изо-, гипер-, и гипотоническими? 3. Что такое осмотическое давление и от чего зависит его величина? 4. Каков физиологический смысл осмотического давления? 5. На чём основан принцип определения осмотического давления методом плазмолиза? 6. Какой практический смысл определения величины осмотического давления клеток растения?

Работа 4. Влияние оводненности замыкающих клеток на движение устьиц под микроскопом

Реактивы: 5% раствор глицерина (или 4 М (24%) раствор мочевины), дистиллированная вода.

Материалы и оборудование:

А. Кусочки фильтровальной бумаги, настольная лампа, горшок с растением.

Б. Микроскопы (2 шт.), предметные и покровные стекла (по 2 шт.), лезвия бритвы (2 шт.), пинцеты (2 шт.), препаровальные иглы (2 шт.), стеклянные палочки (2 шт.), стеклянные бюксы с притертыми крышками для глицерина (мочевины) и воды (2 шт.), глазные пипетки (2 шт.).

Водообеспеченность растений напрямую и косвенно определяет активность всех метаболических процессов. Потери воды при испарении (транспирации) у растений очень велики, поэтому интенсивность данного процесса, а соответственно и газообмен между межклетниками листа и наружной атмосферой в растении четко регулируется путем изменения степени открытия устьиц.

Движение устьиц обусловлено особенностями их анатомического строения. Устьичный аппарат представляет собой щель, окаймленную двумя видоизмененными эпидермальными клетками полулунной или бобовидной формы (замыкающими клетками), внутренние клеточные стенки которых утолщены, а наружные - тонкие. При насыщении замыкающих клеток водой наружные эластичные стенки сильно растягиваются, кривизна замыкающих клеток увеличивается, и устьичная щель открывается. В случае потери воды, замыкающие клетки выпрямляются, и устьичные щели закрываются. Причем они начинают постепенно закрываться еще до появления каких-либо внешних признаков водного дефицита у растения.

Таким образом, *гидроактивное* открывание и закрывание устьиц основано на изменении тургорного давления в замыкающих клетках. В основе динамики тургора замыкающих клеток

лежит изменение их осмотического давления за счет перераспределения калия между замыкающими клетками устьиц и соседними эпидермальными клетками, а также за счет обратимых превращений в системе крахмал-сахар.

Причиной устьичных движений могут быть самые разнообразные факторы: свет, температура, оводненность тканей, концентрация CO_2 в межклетниках. Степень открытости устьиц может быть физиологическим показателем для определения обеспеченности растений водой и установления сроков полива.

В лабораторных условиях можно вызвать открывание и закрывание устьиц, изменяя степень оводненности замыкающих клеток. Например, можно использовать гипотонические растворы для обеспечения тургорного состояния замыкающих клеток и гипертонические растворы для инициации плазмолиза.

Используя плазмолитики пассивно проникающие в клетку (глицерин, мочеви́на) можно пронаблюдать деплазмолиз клеток устьиц в гипертоническом растворе.

Цель работы: Пронаблюдать за движением устьиц и объяснить причины изменения состояния замыкающих клеток.

Объект: Листья зебрины висячей или гиппеаструма садового (амариллис). Заранее, до начала работы растения хорошо полить и выдержать на ярком свете 1,5-2 часа, чтобы вызвать раскрытие устьиц.

Ход работы:

1. Приготовить срез нижнего эпидермиса свежесорванного листа. Поместить его на предметное стекло в каплю дистиллированной воды и накрыть покровным стеклом. Сразу же после этого приступить к наблюдению под микроскопом при малом увеличении. Рассмотреть подробно строение устьиц, определить состояние замыкающих клеток. Зарисовать устьица с окружающими их эпидермальными клетками, отметив все подробности строения и состояния замыкающих клеток.

2. Заменить дистиллированную воду на 5% раствор глицерина. Для этого нанести рядом с покровным стеклом каплю глицерина

и втянуть ее под стекло, отсасывая воду при помощи фильтровальной бумаги с противоположного края.

3. Отметить, в какое состояние переходят замыкающие клетки под действием глицерина. Как изменяется при этом ширина устьичных щелей. Продолжать наблюдение за препаратом в той же капле глицерина в течение 10-20 мин. Зафиксировать, что происходит с устьицами? Объяснить причины данного явления с указанием изменений водообеспеченности замыкающих клеток.

4. Заменить глицерин на дистиллированную воду. Для этого нанести рядом с покровным стеклом каплю воды и втянуть ее под стекло, отсасывая глицерин при помощи фильтровальной бумаги с противоположного края. Отметить, что происходит с устьицами и почему? Как изменяются осмотические показатели замыкающих клеток?

5. Заменить воду вновь на глицерин. Когда состояние устьиц изменится, опять заменить глицерин на воду. Наблюдать за открыванием и закрыванием устьиц.

6. Зарисовать и объяснить последовательность смены плазмолиза и деплазмолиза в замыкающих клетках. В выводе работы объяснить причины устьичных движений изменением состояния водонасыщенности замыкающих клеток.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. Какие характерные особенности строения отличают замыкающие клетки устьиц от окружающих клеток эпидермиса? 2. Каковы принципы функционирования устьиц? 3. Чем обусловлено гидроактивное, а чем гидропассивное движение устьиц? 4. Как и почему изменяется состояние устьиц в капле глицерина непосредственно после помещения среза в каплю раствора и по прошествии 15-20 мин? Как глицерин влияет на степень водонасыщенности замыкающих клеток? 5. Какие факторы прежде всего определяют ширину устьичной щели?

ЗАДАНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ И САМОКОНТРОЛЯ

1. Когда сосущая сила клетки равна 0: в состоянии плазмолиза или полного насыщения водой?
2. Молярные растворы KCl и $CaCl_2$ разделены полупроницаемой мембраной. В сторону какого раствора будет передвигаться вода?
3. Клетка погружена в раствор, осмотическое давление которого 11 атм. Куда пойдет вода, если известно, что тургорное давление клетки – 4 атм., а осмотическое давление клеточного сока – 13 атм.
4. Две живые растительные клетки соприкасаются друг с другом. Первая клетка имеет осмотическое давление 9 атм., а тургорное – 4 атм., а вторая 14 и 11 атм., соответственно. Какая из клеток будет отдавать воду, а какая – поглощать?
5. Две живые растительные клетки соприкасаются друг с другом. Первая клетка имеет осмотическое давление 15 атм., а тургорное – 7 атм., а вторая 15 и 9 атм., соответственно. Какая из клеток будет отдавать воду, а какая – поглощать?
6. Найдите осмотическое давление 0,3 М растворах KCl при $0^\circ C$. Изотонический коэффициент данного раствора равен 1,86.
7. Чему равно осмотическое давление клеточного сока при $17^\circ C$, если известно, что изотонический для данной клетки раствор сахарозы имеет концентрацию 0,4 М?
8. Клетка с осмотическим давлением клеточного сока 10 атм. погружена в раствор KCl , осмотическое давление которого 14 атм. Что происходит с клеткой?
9. Можно ли отнять воду от клетки после достижения ею состояния полного завядания, то есть полной потери тургора? Объясните.
10. Что произойдет с плазмолизированными клетками после переноса их в гипотонический раствор?
11. Кусочки одной и той же растительной клетки погружены в растворы 1 М сахарозы и 1 М хлорида натрия. В каком из названных растворов будет наблюдаться более сильный плазмолиз? Как это объяснить?

12. Кусочки эпидермиса лука были выдержаны несколько часов в гипотонических растворах KNO_3 и $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, а затем перенесены в гипертонический раствор сахарозы. В каком из указанных вариантов опыта будет наблюдаться более быстрый переход от вогнутого плазмолиза к выпуклому? С чем это связано?
13. Растворы, имеющие осмотическое давление 7 и 8 атм., вызвали плазмолиз клеток исследуемой ткани, а в растворах, осмотическое давление которых равно 5 и 6 атм., плазмолиза не наблюдалось. Чему равно $P_{\text{осм.}}$ клеточного сока?
14. Найти осмотическое давление клеточного сока при 17°C , если известно, что 0,2 и 0,3 М растворы сахарозы плазмолиза клетки не вызывают, а в 0,4 М растворе наблюдается плазмолиз.
15. Чему равны сосущая сила клетки и ее тургорное давление: а) при полном насыщении клетки водой; б) при плазмолизе?
16. Сосущая сила клетки равна 7 атм. Чему равно тургорное давление этой клетки, если осмотическое давление ее клеточного сока равна 14 атм.?
17. Осмотическое давление клеточного сока 10 атм., а тургорное давление составляет $\frac{2}{5}$ от максимальной величины. Определить сосущую силу клетки.
18. Осмотическое давление клеточного сока 12 атм., а тургорное давление этой клетки составляет $\frac{3}{4}$ от максимальной величины. Чему равна сосущая сила клетки?
19. Клетка находится в состоянии полного насыщения водой. Осмотическое давление клеточного сока равно 9 атм. Чему равны сосущая сила и тургорное давление этой клетки?
20. Клетка, осмотическое давление которой 11 атм., погружена в изотонический раствор. Что произойдет с клеткой? (Разобрать два возможных случая).
21. Клетка находится в состоянии полного завядания (начинающий плазмолиз). Чему равны осмотическое давление клеточного сока и тургорное давление этой клетки, если известно, что сосущая сила этой клетки равна 7 атм.?
22. Клетка погружена в 0,3 М раствор сахарозы. Куда пойдет вода, если известно, что осмотическое давление клеточного сока

равно 9 атм., тургорное давление 7 атм., а температура раствора 17°C?

23. Клетка погружена в дистиллированную воду. В каком случае клетка будет поглощать воду, а в каком не будет?

24. Клетка погружена в гипотонический раствор. Осмотическое давление клеточного сока составляет 12 атм., наружного раствора – 10 атм. Куда будет перемещаться вода? (Разобрать три возможных случая).

25. Опишите, что произойдет, если клетку в состоянии начинающегося плазмолиза с осмотическим давлением 18 атм. поместить в раствор, осмотическое давление которого 8 атм. Чему будут равны величины водного потенциала и тургорного давления клетки в состоянии равновесия?

26. Чему равна сосущая сила клеток, если известно, что при погружении в 0,4 М раствор сахарозы размеры клеток увеличились, а в 0,5 М растворе уменьшились? Опыт проводился при температуре 27°C.

27. Кусочки одной и той же растительной ткани погружены в ряд растворов с осмотическим давлением 3, 5, 10, 15, 20 и 25 атм. Клетки этой ткани перед погружением в растворы имели осмотическое давление 15 атм. и тургорное давлений 5 атм. В каких растворах: а) клетки будут поглощать воду; б) клетки будут отдавать воду; в) будет наблюдаться плазмолиз клеток?

28. Кусочки ткани, вырезанные из корнеплода свеклы, были измерены и погружены на 30 мин. в растворы NaCl разной концентрации. Оказалось, что 0,2 М растворе длина кусочка не изменилась, в 0,3 М растворе уменьшилась, в 0,1 М растворе увеличилось. Как объяснить полученные результаты? При использовании, какого показателя концентрации можно рассчитать водный потенциал клеток свеклы?

29. Найти сосущую силу клеток, если известно, что в растворах, имеющих осмотическое давление 4 и 6 атм., размеры клеток увеличились, а в растворе, осмотическое давление которого 8 атм., произошло уменьшение объема клеток?

30. В какую сторону изменится длина кусочка растительной ткани при погружении ее в раствор, имеющий осмотическое

давление 11 атм., если известно, что кусочек той же ткани в растворе с осмотическим давлением 10 атм. не изменил своих размеров? Объясните.

31. При погружении куска растительной ткани в 10 % раствор сахарозы концентрация последнего осталась без изменения. В какую сторону изменится концентрация 12 % раствора сахарозы, если в него поместить упомянутый кусок ткани? Объясните, почему?

32. Две живые клетки соприкасаются друг с другом. Куда будет передвигаться вода, если у 1-й клетки осмотическое давление клеточного сока равно 13 атм., тургорное давление – 6 атм., а у 2-й клетки соответствующие показатели равны 17 и 14 атм.? Объясните.

33. Одинаковые сеянцы посажены в сосуды с растворами безвредных солей. Осмотическое давление раствора в 1-м сосуде равно 1 атм., во 2-м – 3 атм., в 3-м – 5 атм., в 4-м – 7 атм. Как будет происходить всасывание воды сеянцами, если осмотическое давление клеточного сока корневых волосков этих растений составляет 5 атм.?

34. Растение пересажено в почву, осмотическое давление почвенного раствора которой 4 атм. В момент посадки корневые волоски имели осмотическое давление клеточного сока 9 атм., а тургорное давление – 7 атм.; сможет ли это растение жить на данной почве? Объясните.

35. Древесное растение, имеющее листовую поверхность 13 м^2 , испарило за 2 часа 4 кг воды. Определите интенсивность транспирации.

36. Растение, имеющее листовую поверхность $2,3 \text{ дм}^2$, испарило за 1,5 часа 3 кг воды. Чему равна интенсивность транспирации?

37. В клетках каких растений выше осмотическое давление клеточного сока: у выросших в тенистом влажном месте или у растущих в степи? Как объяснить это различие?

38. За вегетационный период растение накопило 3,5 кг органического вещества и испарило 620 кг воды. Определить продуктивность транспирации.

39. В клетках каких растений выше концентрация клеточного сока: у растущих на солончаках или на незасоленных почвах? С чем это связано?
40. Побег, взвешенный сразу после срезания, имел массу 10,26 г, через 3 мин. - 10,17 г. Площадь листьев побега равна 240 см^2 . Вычислить интенсивность транспирации.
41. Дерево, имеющее листовую поверхность 12 м^2 , испарило за 2 часа 3 кг воды. Чему равна интенсивность транспирации?
42. Сколько воды испарит растение за 5 мин., если площадь его листьев равна 240 см^2 , а интенсивность транспирации – $120 \text{ г/м}^2 \cdot \text{час}$?
43. Древесное растение, имеющее листовую поверхность 25 м^2 , испарило за 2 часа 12 кг воды. Определите интенсивность транспирации.
44. Сколько воды испарит растение за 6 мин, если площадь листьев равна 240 см^2 , а интенсивность транспирации $120 \text{ г/м}^2/\text{ч}$.
45. Сколько воды испарит растение за 30 мин, если интенсивность транспирации его равна $200 \text{ г/м}^2/\text{ч}$, площадь листьев 250 см^2 .
46. За вегетационный период растения накопили 2,1 кг органического вещества и испарили за все это время 525 кг воды. Определить продуктивность транспирации.
47. Чему равен транспирационный коэффициент дерева, испарившего за вегетационный период 4 т воды и накопившего за это время 20 кг сухого вещества?
48. Транспирационный коэффициент равен 150 мл/г. Найти продуктивность транспирации.
49. Транспирационный коэффициент равен 125 мл/г. Найти продуктивность транспирации.
50. Продуктивность транспирации равен 4 г/л. Найти транспирационный коэффициент.
51. Продуктивность транспирации равна 6 г/л. Найти транспирационный коэффициент.
52. Дерево за 1 час испарило 500 г воды, а корневая система поглотила за этого же время 450 г воды. Какие условия внешней

среды могли вызвать указанное несовпадение количества поглощенной и испаренной воды? Как это отразится на растении?

53. Как объяснить заведение листьев в жаркий летний день при достаточном количестве воды в почве и ликвидацию водного дефицита ночью?

54. Растение было выдержано несколько часов в темноте, а затем выставлено на прямой солнечный свет. Как изменится при этом транспирация? Почему?

55. Как объяснить "плач" березы при поранение ствола рано весной и отсутствие этого явления летом?

56. В двух сосудах с почвой были выращены проростки кукурузы при одинаковых условиях. Затем одну плошку поставила в сосуд с водой комнатной температуры, а вторую - в сосуд с водой, нагретой до 30°C, после чего обе плошки закрыли стеклянными колпаками. У каких проростков будет наблюдаться более интенсивная гуттация? Как это объяснить?

57. Ветка ивы была связана с дерева, поставлена в банку с водой и закрыта стеклянным колпаком. Будет ли наблюдаться гуттация у этой ветки? Объясните.

ВОПРОСЫ К КОЛЛОКВИУМУ

1. Значение воды в жизни растений.
2. Структура чистой воды. Состояние воды в растворах.
3. Содержание воды и формы воды в растительной клетке и в растении (сравнить разные типы тканей, органов)
4. Растительная клетка как осмотическая система. Осмотические свойства растительной клетки.
5. Транспирация. Биологическое значение транспирации. Верхний концевой двигатель.
6. Лист как орган транспирации.
7. Строение и функционирование устьиц.
8. Устьичная, кутикулярная и другие виды транспирации.
9. Суточный ход транспирации, зависимость транспирации от внешних условий среды.
10. Нижний концевой двигатель. Корневое давление.
11. Поглощение воды корневой системой из почвы при достаточном количестве воды и в засушливых условиях.
12. Радиальный транспорт воды по корню. Апопласт, симпласт.
13. Передвижение воды по сосудистой системе.
14. Водный баланс растения. Водный дефицит.

РАЗДЕЛ 2. ФОТОСИНТЕЗ

Фотосинтез — это сложный многоступенчатый окислительно-восстановительный процесс, в котором происходит восстановление углекислого газа до уровня углеводов и окисление воды до кислорода с использованием энергии света.

Реакции фотосинтеза протекают в специализированных органеллах — хлоропластах, имеющих сложное строение (рис. 5) Процессы, происходящие в них подразделяют на две группы: реакции световой фазы и реакции темновой фазы. К основным показателям фотосинтеза относят интенсивность и продуктивность процесса.

Интенсивность (скорость) фотосинтеза может быть выражена в следующих единицах: **в мг CO_2** , ассимилированного 1 дм^2 листа за 1 ч; **в мл O_2** , выделенного 1 дм^2 листа за 1 ч; **в мг сухого вещества**, накопленного 1 дм^2 листа за 1 ч. Чаще интенсивность фотосинтеза выражают в количестве углекислого газа, которое усваивается единицей листовой поверхности за единицу времени. В зависимости от вида растения этот показатель колеблется от 5 до 25 мг $\text{CO}_2/\text{дм}^2\cdot\text{ч}$.

Продуктивность фотосинтеза - это отношение суточного увеличения **массы** всего растения (в граммах) **к площади** листьев. В среднем эта величина составляет от 5 до 12 г сухого вещества на 1 м^2 листовой поверхности в сутки.

Роль процесса фотосинтеза для нашей планеты трудно переоценить. Выделяют 6 главных значений фотосинтеза.

1. Геологическое. Растения в процессе фотосинтеза выводят из пассивного состояния многие виды химических элементов, вовлекая их в геологические циклы на нашей планете.
2. Биологическое. Благодаря фотосинтезу на нашей планете зародилась кислородная атмосфера. Появление «озонового слоя», основу которого составляет одна из форм кислорода, позволило животным и растениям заселить сушу.
3. Основа дыхания. Выделяемый в качестве побочного продукта фотосинтеза кислород используется 97 % живых организмов

на нашей планете для дыхания. За год в процессе фотосинтеза растения выделяют 200 000 000 тонн свободного кислорода.

4. Энергетическая. В процессе фотосинтеза запасается большое количество энергии. Известные нам ископаемые виды топлива (уголь, нефть, природный газ, торф) есть по сути сконцентрированный за века итог фотосинтеза.

5. Экологическая. Изымая из окружающей среды углекислый газ для фотосинтеза, растения тем самым регулируют газовый состав атмосферы и спасают нашу планету от «парникового эффекта». За год растения поглощают до 200 000 000 000 тонн углекислого газа.

6. Сельскохозяйственная. При повышенном содержании углекислоты ряд растений растет быстрее, это свойство используется при создании теплиц. Также у многих сельскохозяйственных растений (например, подсолнечник) фотосинтез способствует образованию побочных жирных кислот и глицерина, в форме которых они запасают энергию.

Исследование процессов фотосинтеза как на клеточном, так и на организменном уровне имеет огромное значение.

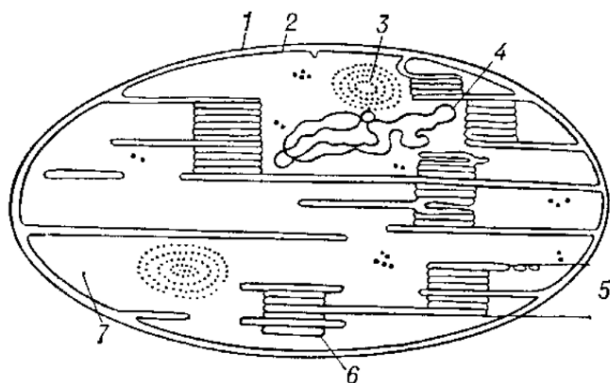


Рис. 5. Строение хлоропласта.

Работа 5. Физико-химические свойства пигментов зеленого листа

Реактивы: 96% этиловый спирт (по 10 мл на человека), 100 – 150 мл концентрированной спиртовой вытяжки пигментов, бензин или нефрас, 20% раствор NaOH (KOH), 10 % раствор HCl, ацетат меди или ацетат цинка, вазелин, CaCO_3 или MgCO_3 , чистый кварцевый песок, петролейный эфир, дистиллированная вода, спирт для спиртовок; 4% раствор медного купороса, насыщенный аммиаком.

Смеси растворителей для разгонки пигментов: 1) бензин + петролейный эфир + ацетон (20:5:4); 2) толуол + 95% этанол (20:0,1); 3) петролейный эфир + этанол (20:1 или 20:1,5); 4) бензин + петролейный эфир (20:5); 5) бензин с точкой кипения 80-120°.

Материалы и оборудование:

А. стеклянный бюкс с притертой крышкой для этилового спирта, глазная пипетка, большие широкие пробирки (2 шт.), поставленные в химический стакан, лист черной бумаги, настольная лампа (150-200 Вт), склянка с ацетатом меди (цинка), банка с CaCO_3 , шпатели, колба с синим жидким светофильтром.

Б. Штативы для пробирок (2 шт.), пробирки обыкновенные (8 шт.), конические колбочки с этиловым спиртом (2 шт.), пробки для колб (2 шт.), фарфоровые ступки с пестиками (2 шт.), стеклянные палочки (2 шт.), воронки (2 шт.), бумажные фильтры (2 шт.). Хроматографическая бумага размером 4 • 17 см, капельницы с кислотой и щелочью (2 шт.), ножницы (2 шт.), химический стакан объемом 250-300 мл, закрытый чашкой Петри, спиртовки (2 шт.), держатели для пробирок (2 шт.), спички, электроплитка, спектроскоп, настольная лампа с лампой накаливания (100-150 Вт). Штатив с лапкой, широкий стеклянный бюкс без крышки, скальпели (2 шт.), чашка с песком, колба с водой, цветные и простые карандаши, линейки (2 шт.).

В мембранах хлоропластов фотоавтотрофов находится целый комплекс различных пигментов, принимающих участие в фотосинтезе: хлорофиллы, каротиноиды и фикобилины (дополнительные пигменты водорослей). Разнообразие пигментов растений с особенностями их химического строения представлено на рис. 6.

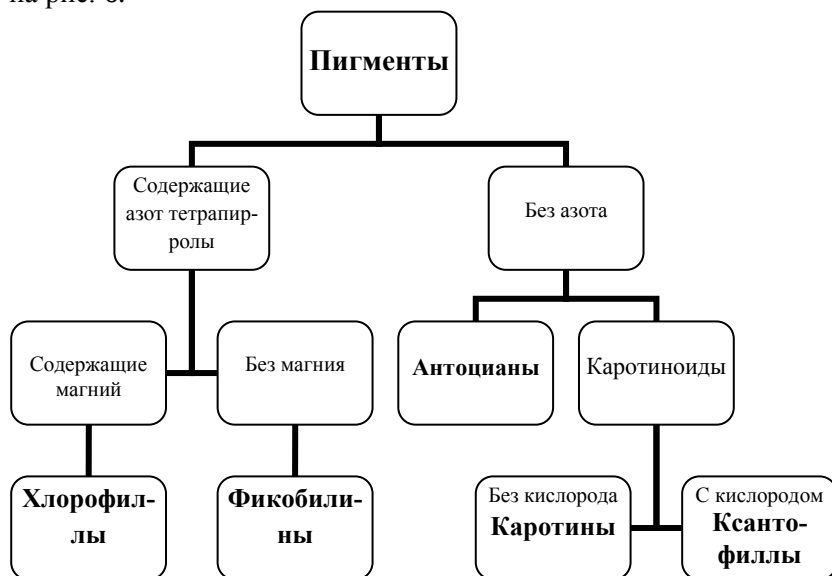


Рис. 6. Разнообразие пигментов растений.

Хлорофиллы – соединения тетрапиррольной природы, которые являются сложными эфирами дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов – метанола и фитола: хлорофилл *a* и хлорофилл *b* (соответственно $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ и $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$). Структурной основой молекулы служит порфириновое кольцо, в центре которого находится атом магния. Циклическая система конъюгированных двойных связей и атом магния определяют фотохимическую активность пигмента (рис. 7).

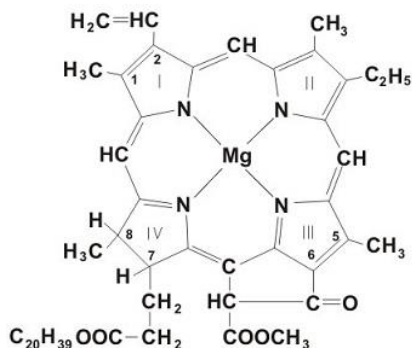


Рис. 7. Структурная формула хлорофилла.

Каротиноиды – желтые пигменты, относящиеся к группе полиизопреноидов (рис. 8), которые подразделяются на каротины – непредельные углеводороды с эмпирической формулой $C_{40}H_{56}$ (у высших растений основным желтым пигментом является β -каротин) и ксантофиллы – кислородсодержащие производные каротинов ($C_{40}H_{56}O_2$): лютеин, зеаксантин, виолаксантин и др. Хроматофорную систему каротиноидов составляют конъюгированные двойные связи.

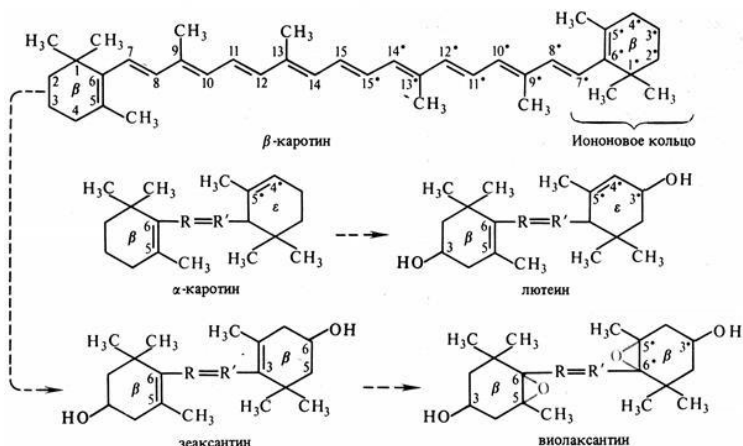


Рис. 8. Примеры каротиноидов.

Основным функциональным пигментом, осуществляющим фотосинтетическую работу, является хлорофилл *a*. Остальные пигменты являются вспомогательными, они передают поглощенную энергию солнца хлорофиллу *a*, повышая тем самым коэффициент использования энергии света.

Любая работа в области фотосинтеза требует знаний характеристики пигментных систем.

Цель работы: Извлечь пигменты зеленых листьев высших растений, познакомиться с их составом, оптическими и некоторыми физико-химическими свойствами основных пигментов.

Объект: Свежие зеленые листья любого растения.

1. ПОЛУЧЕНИЕ СПИРТОВОЙ ВЫТЯЖКИ

Пигменты могут быть экстрагированы из свежего и фиксированного растительного материала только при использовании полярных или смеси полярных (спирты, ацетон) и неполярных (петролейный эфир, бензин и др.) растворителей. Пигменты находятся на мембранах пластид в виде хромо-липопротеидного комплекса. Полярные растворители, вызывая денатурацию белка и разрушая связи липопротеидного комплекса, обеспечивают быструю и наиболее полную экстракцию всех пигментов.

Ход работы:

1. Свежие листья, вырезав центральную жилку, быстро и мелко измельчить ножницами в фарфоровую ступку.
2. Тщательно растереть с небольшим количеством чистого кварцевого песка, добавив предварительно на кончике скальпеля CaCO_3 или MgCO_3 для нейтрализации органических кислот клеточного сока, которые могут привести к разрушению хлорофилла.
3. Затем прилить небольшое количество (3 - 4 мл) спирта и продолжать растирать растительную массу до гомогенного состояния.

4. В полученную массу влить весь оставшийся спирт из колбы, размешать до появления интенсивно изумрудно-зеленой окраски. Настоять 2 - 3 мин., дав вытяжке отстояться.
5. В это время приготовить фильтр, смазать снизу носик фарфоровой ступки небольшим количеством вазелина.
6. После этого надсадочный экстракт осторожно без остатка слить по стеклянной палочке в воронку с фильтром. Фильтровать сразу в сухие пробирки по 1,5 - 2 мл вытяжки в каждую (4 шт.).

Если спиртовую вытяжку пигментов необходимо сохранить в течение 1-3 дней, то колбу с ней, герметично закрытую пробкой, следует поставить в холодильник, так как на свету и при доступе воздуха хлорофилловая вытяжка быстро разрушается, теряя свою зеленую окраску.

С полученным спиртовым экстрактом пигментов зеленого листа провести ряд опытов.

2. ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ

2.1. *Прямое разделение пигментов по Краусу.* Метод основан на различной растворимости пигментов в спирте и бензине. Сродство пигментов к растворителям определяется степенью их полярности. Ксантофиллы, содержащие две или более полярных групп, хорошо растворимы в спирте, в то время как каротин, не имеющий полярных групп, отличается более высоким сродством к бензину. Фитольный остаток в молекуле хлорофилла представляет ее гидрофобную часть и обуславливает большее сродство пигмента с бензином. Данные растворители при сливании не смешиваются и образуют две фазы: верхняя более легкая – бензин и нижняя – спирт. Благодаря этому разделяются и пигменты листа, находящиеся в спиртовой вытяжке.

Ход работы:

1. В пробирку с 2 мл спиртового экстракта пигментов листа, имеющего интенсивную зеленую окраску, добавить 3 мл (то есть в 1,5 раза больше по объему) бензина.

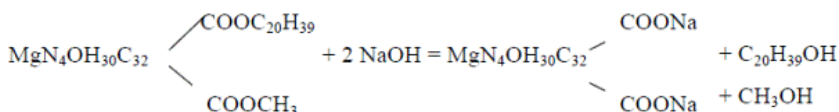
2. Содержимое пробирки, закрыв пробкой или большим пальцем, несколько раз сильно встряхнуть и дать отстояться. По мере расслоения эмульсии будет происходить и разделение пигментов.

Если это разделение недостаточно четкое (оба слоя окрашены в зеленый цвет), добавить 2 - 3 капли дистиллированной воды (чтобы спирт не смешивался с бензином), прилить еще немного бензина и снова энергично встряхнуть.

При избытке воды возможно помутнение нижнего спиртового слоя. В этом случае следует прилить немного этилового спирта, энергично встряхнуть содержимое пробирки и дать отстояться.

3. Зарисовать цветную картину распределения пигментов в системе спирт - бензин, подписать в слое какого растворителя находятся хлорофиллы, каротины и ксантофиллы. Объяснить различную растворимость в бензине и спирте пигментов зеленого листа.

2.2. Обратное разделение пигментов по Краусу или омыление хлорофилла щелочью. Обработывая хлорофилл щелочью, можно вызвать омыление эфирных групп, то есть отщепление остатков метилового спирта и фитола. Образующаяся при этом соль двухосновной хлорофилловой кислоты сохраняет зеленую окраску и оптические свойства хлорофилла. Удаление фитола при омылении хлорофилла увеличивает гидрофильность соли по сравнению с пигментом, что повышает сродство пигмента к полярным растворителям. Желтые пигменты со щелочью не реагируют.

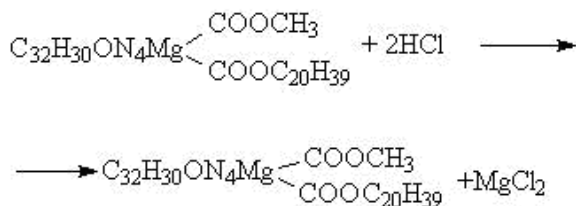


Ход работы:

1. Во вторую пробирку с 2 мл спиртовой вытяжки пигментов прилить 3 - 4 капли 20% раствора NaOH (или KOH) и взболтать.

2. К раствору добавить 2 мл бензина и 2 - 3 капли воды. Содержимое пробирки резко встряхнуть и дать отстояться.
3. Зарисовать и подписать полученную картину распределения пигментов в системе спирт-бензин, так как при расслоении бензина и спирта произойдет разделение и смеси пигментов.

2.3. *Получение феофитина и обратное замещение водорода атомом металла.* Атом магния сравнительно слабо удерживается в порфириновом ядре хлорофилла и при воздействии сильных кислот легко замещается двумя протонами, что приводит к образованию феофитина 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, так как восстанавливается металлорганическая связь в молекуле. Однако она несколько отличается от окраски хлорофилла.

Ход работы:

1. В третью пробирку с 2 мл спиртовой вытяжки пигментов прибавить 2 капли 10% раствора HCl. Осторожно взболтать. Зарисовать и записать результаты опыта.
2. В пробирку с побуревшей вытяжкой внести немного (на кончике скальпеля) ацетата меди (цинка).
3. Осторожно нагреть раствор на спиртовке до кипения. Продолжать нагревание до тех пор, пока цвет раствора не изменится в результате образования хлорофиллоподобного производного меди (цинка).
4. Зарисовать пробирку, отметив изменение окраски раствора. Сделать вывод, от чего зависит зеленый цвет хлорофиллов.

3. РАЗДЕЛЕНИЕ ПИГМЕНТОВ ЛИСТА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Одним из наиболее удобных и тонких методов разделения смеси веществ является хроматографический. Принципы хроматографии впервые были разработаны русским физиологом М. С. Цветом в начале 20-го века. В настоящее время существует много ее модификаций и применяется она для анализа практически любых веществ.

Все хроматографические системы состоят в основном из двух фаз: неподвижные и подвижные. Хроматографическое разделение смеси веществ на бумаге идет при условии равновесного распределения компонентов между двумя несмешивающимися жидкими фазами. Этот метод основан на распределении пигментов между целлюлозными волокнами хроматографической бумаги, на которых задерживается вода (неподвижная фаза), и подвижной фазой (неводными растворителями). Чем выше растворимость пигмента в подвижной фазе и меньше его адсорбционное сродство к бумаге, тем дальше и быстрее он продвигается по ней вместе с растворителем, и наоборот.

При восходящей хроматографии бумажную полосу нижним концом погружают в растворитель вертикально. По мере движения растворителя под действием капиллярных сил вертикально вверх, происходит разделение растворенных веществ. Хроматографию проводят в герметично закрытых сосудах, что предотвращает испарение растворителя с бумаги. В данной работе разделение основных пигментов зеленого листа, содержащихся в экстракте, проводится на равномерной хроматограмме (по ходу волокон). В результате получают пять полос пигментов, хорошо отделенных друг от друга в следующей последовательности (от стартовой линии): хлорофилл *в* (зелено-желтый оттенок), хлорофилл *а* (синевато-зеленый оттенок), виолаксантин, лютеин, каротин.

Ход работы:

1. Взять полоску хроматографической бумаги размером 5 * 15 - 17 см и на одном из ее концов провести простым карандашом с

помощью линейки тонкую линию, отступив от края 1,5 - 2 см (стартовая линия).

2. Край полоски опустить в бюкс со спиртовой вытяжкой пигментов и держать ее до тех пор, пока раствор пигментов не поднимется до стартовой линии. Затем сразу подсушить бумагу в токе воздуха над электроплиткой (держат на высоте не менее 10 - 15 см) до полного испарения растворителя. Повторить 5 - 7 раз. Участок бумаги до стартовой линии должен быть насыщенного ярко-зеленого цвета.

3. После этого подсушенный конец бумаги опустить в бюкс с чистым этиловым спиртом, в результате чего все пигменты подгоняются к стартовой линии, и на фильтровальной бумаге образуется окрашенная зона сконцентрированных пигментов в виде зеленой полосы шириной не более 0,5 см. после этого бумагу в последний раз подсушить в токе воздуха.

4. Полоску бумаги строго вертикально поместить в хроматографическую камеру для разгонки, в качестве которой используется цилиндр или химический стакан, на дно которого налита смесь растворителей (уровень смеси должен быть ниже стартовой линии примерно на 1 - 2 см). Сосуд закрыть крышкой, прижав при этом загнутый верхний конец бумаги.

Хроматографическая бумага должна быть установлена таким образом, чтобы ее нижний конец был опущен в смесь растворителей, но в то же время так, чтобы растворитель не касался зоны пигментов, а края ее не должны касаться стенок сосуда.

5. Через 15 - 20 мин., когда фронт растворителя поднимется примерно на 14 см и произойдет полное разделение пигментов, хроматограмму вынуть и подсушить на воздухе.

6. Разрезать полоску бумаги вертикально пополам на каждого студента и, вклеив хроматограмму в тетрадь, подписать все пигменты.

Сделать вывод о составе пигментов зеленого листа, о причинах наблюдаемого разделения пигментов на бумаге.

4. ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ

Важной характеристикой пигментных систем являются спектры поглощения и флуоресценции. Это дает информацию об индивидуальных формах пигментов, присутствующих в биологической системе, и их состоянии. Дело в том, что в процессе фотосинтеза все пигменты избирательно поглощают энергию света в пределах видимой части спектра (380 - 800 нм). У хлорофиллов два ярко выраженных максимума в красной (640 - 680 нм) и в сине-фиолетовой (430 - 470 нм) областях. Каротины и ксантофиллы поглощают свет только в области сине-фиолетовых лучей. Поглощение пигментами лучей определенной длины волны обусловлено их молекулярной структурой, наличием в них хромофорных группировок.

4.1. *Наблюдение спектров поглощения пигментов зеленого листа.* Для этого используется спектроскоп. По положению темных полос в опытном спектре определяют, какие лучи поглощаются исследуемым пигментом.

Ход работы:

1. Закрепить спектроскоп в лапке штатива или можно просто держать в руке. Прибор навести на яркую электролампу так, чтобы все области спектра имели одинаковую яркость.
2. Рассмотреть и зарисовать контрольный спектр видимого белого света (рис. 9).
3. Затем перед щелью спектроскопа (между прибором и источником света), плотно прижав к ней, поместить пробирку со спиртовой вытяжкой хлорофилла и определить положение темных полос, которые соответствуют лучам, поглощаемым хлорофиллом. Ширина полос зависит от концентрации пигмента или толщины слоя раствора. Зарисовать спектр поглощения хлорофилла (рис. 9).
4. Для изучения спектра поглощения желтых пигментов необходимо использовать пробирки, в которых были проведены реакции прямого и обратного разделения по Краусу. Рассмотреть

и зарисовать спектры поглощения каротина и ксантофилла, отметив положение темных полос черным карандашом (рис. 9).

Сравнить спектры поглощения желтых и зеленых пигментов. Сделать выводы.

	Белый свет
	Хлорофиллы
	Каротины
	Ксантофиллы

К О Ж З Г С Ф

Рис. 9. Схема зарисовки спектров поглощения.

4.2. *Флуоресценция хлорофилла.* Процесс поглощения кванта света сопровождается переходом электрона на более высокий энергетический уровень. Одним из возможных путей «разрядки» энергии электронного возбуждения молекулы пигмента при возвращении электрона на прежнюю орбиту в основное исходное состояние является *флуоресценция* – испускание возбужденной молекулой хлорофилла излучения в виде лучей большей длины волны (свечение). Это свидетельствует о значительной фотохимической активности хлорофилла. Независимо от длины волны поглощенного света хлорофилл флуоресцирует только в красной области спектра. Каротиноиды этим свойством не обладают.

В живых листьях флуоресценция выражена слабо, так как энергия используется в фотохимических процессах. Возрастание интенсивности фотосинтеза влечет за собой ослабление флуоресценции.

Ход работы:

1. Пробирку со спиртовой вытяжкой пигментов поместить на фоне черной бумаги у источника света и рассмотреть ее в отраженном свете, то есть со стороны источника освещения. Какого цвета в этом случае будет вытяжка хлорофилла? Зарисовать

окраску вытяжки в проходящем и отраженном свете, проанализировать причины флуоресценции.

2. Для того, чтобы убедиться, что флуоресценция обусловлена превращением поглощенных лучей в лучи другой длины волны, надо осветить раствор хлорофилла синим светом – для этого на пути лучей (между пробиркой и источником света) поместить синий светофильтр. Цвет отраженных лучей останется тем же, что и при освещении белым светом.

4.3. *Рассмотрение концентрированной спиртовой вытяжки в проходящем свете.* Высокую концентрацию хлорофиллов можно заменить толстым слоем спиртовой вытяжки.

Ход работы:

1. В большую пробирку (диаметром около 2 см) налить 100-150 мл спиртовой вытяжки пигментов зеленого листа. Поместить ее над источником света и рассмотреть сверху в проходящих через нее лучах.

2. В другую пустую большую пробирку перелить из 1-й (все необходимо делать над источником света) небольшое количество экстракта и также рассмотреть в проходящем свете.

3. Полностью перелить всю вытяжку из 1-й во 2-ю пробирку и снова рассмотреть окраску раствора в проходящем свете.

Зарисовать результаты эксперимента. Объяснить, почему концентрированный раствор хлорофилла в проходящем свете имеет гранатово-красный цвет, а небольшой слой вытяжки – изумрудно-зеленый? Чем это обусловлено?

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. Каковы основные принципы выделения пигментов из зеленого листа? 2. Какие пигменты находятся в листьях высших растений? 3. Каково строение и химические свойства хлорофиллов? Каково строение и химические свойства каротиноидов? 4. Принципы хроматографического разделения пигментов. 5. Какие лучи наиболее сильно поглощаются хлорофиллом, а какие – каротиноидами? 6. Отчего зависят оптические свойства пигментов: какие особенности

строения молекул хлорофиллов и желтых пигментов обеспечивают им способность поглощать свет в определенной области спектра? 7. Что такое флуоресценция?

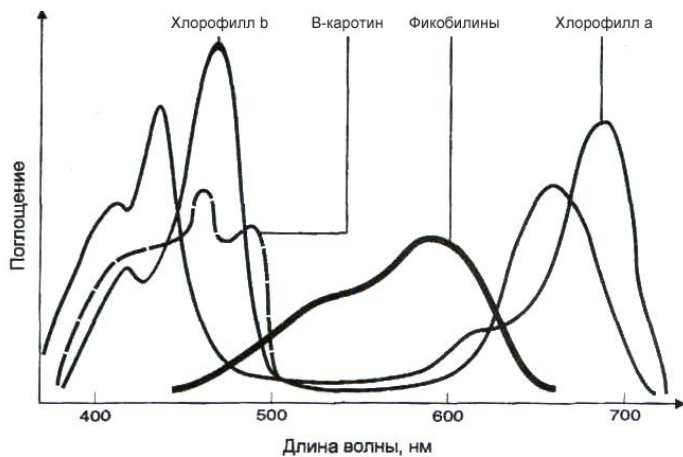


Рис. 10. Спектр поглощения света разными пигментами фотосинтеза.

Работа 6. Изучение условий фотосинтетической работы хлорофилла и образования продуктов ассимиляции углерода

Реактивы: 0,04% раствор метилового красного в этиловом спирте, спиртовая вытяжка пигментов из листьев (из расчета 1,5 г. листьев на 25 мл вытяжки), 96% этиловый спирт, аскорбиновая кислота (кристаллическая), 4% раствор медного купороса, насыщенный аммиаком, 1% раствор хромата (IV) калия ($K_2Cr_2O_7$), раствор Люголя (J в KJ), разбавленный в 3 раза, отстоявшаяся водопроводная вода, теплая вода, кипяток.

Материалы и оборудование: А. Электроплитка (3 шт.), водяная баня (2 шт.), кристаллизатор с теплой водой, круглая колба объемом 250 - 500 мл со спиртом на кипящей водяной бане, закрытая воронкой или крышкой от бюкса, крючок из проволоки, настольные лампы (150 Вт) (3 - 4 шт.), тройник, удлинитель, пинцет, химические стаканчики на 100 - 150 мл (2 шт.), старые гербарные газеты, кастрюля. В темной камере горшки с растениями.

Б. Капельница с красителем, колба с экстрактом пигментов, маленький стеклянный бюкс для спирта, мерный цилиндр на 10 мл, пробирки (4 шт.), три взвешенные пропорции аскорбиновой кислоты (по 50 мг), штатив для пробирок, лист черной бумаги, настольная лампа с лампой накаливания (150 Вт), стеклянная банка с отстоявшейся водой, колбы с цветными экранами (2шт.), химические стаканчики на 100 - 150 мл. (2 шт.), лезвия бритвы (2 шт.), двойные трафареты из картона, вырезанные буквы которых совпадают, размером 5х5 см (2 шт.), канцелярские скрепки (4 - 8 шт.), пинцеты (2 шт.), фарфоровые чашки (2 шт.), капельница с раствором Люголя.

Фотосинтез – это процесс преобразования поглощенной организмом электромагнитной энергии света в химическую энергию органических соединений. Световая фаза осуществляется во внутренней мембране хлоропластов при обязательном участии пигментов и ее продуктами являются НАДРН и АТФ. В

темновой фазе фотосинтеза (в строме хлоропластов) происходит первичная фиксация CO_2 и восстановление его до углеводов за счет водорода воды.

Задача 1. Фотосенсибилизирующее действие хлорофилла (по А.А. Гуревичу)

Во время световой фазы фотосинтеза с помощью световой энергии, поглощенной хлорофиллом, вода окисляется до молекулярного кислорода. Освобождающиеся при этом электроны передаются затем через цепь промежуточных переносчиков к НАДР^+ , который восстанавливается до НАДРН . Кроме того, при переносе электронов часть энергии солнца расходуется на образование АТФ, то есть на фотосинтетическое фосфорилирование.

В транспорте электронов воды к НАДР^+ участвуют последовательно две пигментные системы: фотосистема II (ФС II) и фотосистема I (ФС I), которые содержат различные формы хлорофилла *a*, отличающиеся максимумами поглощения в длинноволновой части спектра (рис. 11). В обе системы входят также каротиноиды и хлорофилл *b*.

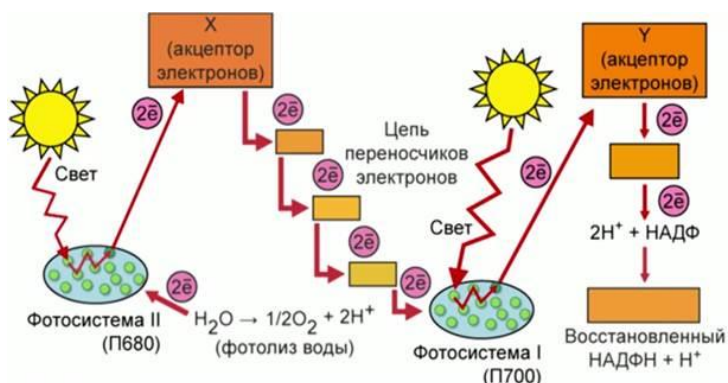


Рис. 11. Совместная работа фотосистем (нециклический транспорт электронов).

Фотоиндуцированное окисление воды и выделение молекулярного кислорода осуществляет ФСII, а за восстановление НАДР⁺ отвечает ФСI. Таким образом, электроны от воды преодолевают путь от одной ФС к другой через последовательно связанные друг с другом переносчики электронов. Результатом этого является образование богатых энергией и восстановительной силой соединений АТФ и НАДРН, необходимых для последующего восстановления углекислого газа. Схемы процессов световой фазы представлены на рис. 11 и 12.

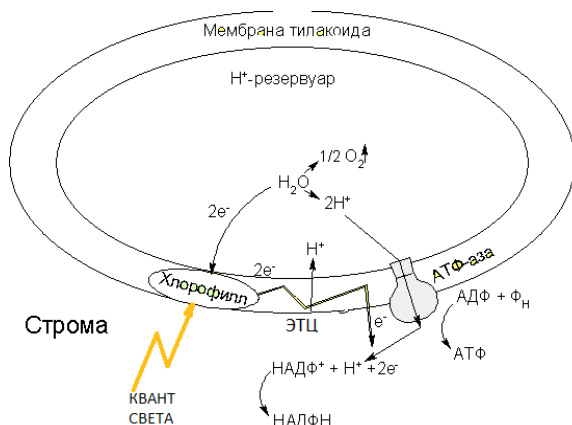
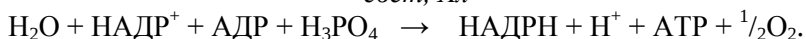


Рис. 12. Фотохимические реакции фотосинтеза.

Процессы можно представить следующим образом:

свет, Хл



При этом хлорофилл выполняет роль **фотосенсибилизатора**, способствующего переносу электронов от донора к НАДР⁺, выполняя три важнейшие функции: 1) избирательное поглощение энергии солнца; 2) запасание ее в виде энергии электронного возбуждения; 3) фотохимическое преобразование энергии электронного возбужденного состояния в химическую энергию первичных акцепторов. Фотосенсибилизирующая роль

хлорофилла может быть продемонстрирована в модельных реакциях с выделенными из растений пигментами (рис. 13).

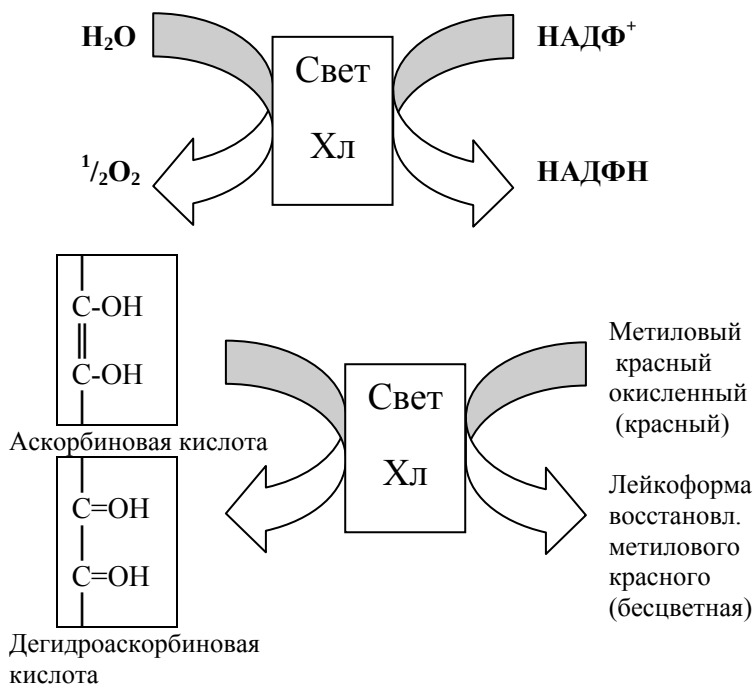


Рис. 13. Схема модельного эксперимента

Для этого в качестве источника водорода берут аскорбиновую кислоту, а акцептора водорода – метиловый красный, который, присоединяя водород, необратимо восстанавливается до бесцветного лейкосоединения. При этом аскорбиновая кислота окисляется в дигидроаскорбиновую кислоту, а хлорофилл, извлеченный из листа, служит сенсбилизатором окислительно-восстановительных реакций. Эту реакцию легко наблюдать, поскольку она связана с обесцвечиванием метилового красного, а окраска хлорофилла остается без изменения.

Цель работы: Изучить функциональную роль хлорофилла и исследовать зависимость ее от интенсивности света и его спектрального состава. Варианты опыта: 1. Белый яркий свет; 2. Красный яркий свет; 3. Синий яркий свет; 4. Рассеянный белый свет.

Объект: Свежие зеленые листья любого растения, из которых готовится спиртовая вытяжка пигментов.

Ход работы:

1. Взять четыре пробирки: в первые три налить по 3 мл спиртовой вытяжки хлорофилла, в четвертую 3 мл этилового спирта. В 1-ю, 2-ю и 4-ю пробирки внести 50 мг кристаллической аскорбиновой кислоты в соответствии с табл. 7. Реакционные смеси несколько раз хорошо встряхнуть.
2. Во все пробирки прибавить по каплям спиртовой раствор метилового красного так, чтобы в пробирках с хлорофиллом зеленая окраска раствора перешла в красно-бурую, а в четвертой пробирке – окраску раствора довести до ярко-розовой. Еще раз все пробирки встряхнуть.
3. Вторую пробирку тщательно завернуть в черную бумагу.
4. Далее каждая пара студентов проводит эксперимент в определенных условиях освещения:

4.1. Все пробирки поставить в штатив напротив включенной электролампы (150 - 200 Вт), расположив ее на расстоянии примерно 15 см от штатива. Для поглощения тепловых лучей между пробирками и источником света поместить заполненный водой сосуд с плоскопараллельными стенками в качестве теплоизоляционного экрана.

4.2. и 4.3. Для изучения зависимости фотосенсибилизирующего действия хлорофилла от спектрального состава света, на пути лучей от электролампы вместо сосуда с водой расположить соответствующий цветной экран. В качестве последнего используется либо синий раствор медного купороса, насыщенный аммиаком, либо красный раствор бихромата калия.

4.4 Штатив с четырьмя пробирками оставить в условиях освещения лаборатории, не включая настольной лампы. Это будет соответствовать слабой интенсивности освещения.

5. Через 15 - 30 мин. рассмотреть опытные растворы. Результаты опыта записать по форме (табл. 7).

Таблица 7

№ пробирки	Реакционная смесь				Условия опыта	Результаты опыта (изменение окраски раствора)			
	Хл*, мл	Этиловый спирт, мл	АК*, мг	Метиловый красный		Яркий свет			Рассеянный свет
						белый	красный	синий	белый
1	3	-	50	Добавляется до появления красной бурой окраски	Свет				
2	3	-	50		Темнота				
3	3	-	-		Свет				
4	-	3	50	Добавляется до появления ярко-розовой окраски	Свет				

АК - аскорбиновая кислота кристаллическая;

Хл - спиртовая вытяжка хлорофилла.

Объяснить результаты эксперимента (изменение окраски опытных растворов в 4 пробирках). Зарисовать схему модельного опыта, объяснить роль хлорофилла и аскорбиновой кислоты в реакции восстановления метилового красного.

Сделать вывод о том, как зависит реакция переноса водорода от интенсивности и качественного состава света.

Задача 2. Образование крахмала на свету в листьях растений (проба Сакса на крахмал)

Процесс фотосинтеза заканчивается у многих растений образованием углеводов, которые при высокой интенсивности процессов откладываются в виде крахмала.

В 1865 г. немецкий физиолог растений Ю. Сакс продемонстрировал, что на свету в листьях образуется крахмал и что он находится в хлоропластах. Эта «проба Сакса» настолько чувствительна, что на листьях удается получить отпечаток с фотонегативов (метод фотографии на листьях).

Опыт заключается в следующем. Зеленое растение, предварительно обильно политое, ставится в темное место на 2 - 3 дня. В темноте новый крахмал не образуется, а имеющийся крахмал частично оттекает из листьев в другие органы растения (превращаясь в растворимые формы углеводов), а также тратится в процессе дыхания и роста. То есть происходит полное обескрахмаливание листьев. Затем, прижав к верхней и нижней стороне листа экраны из картона или любой плотной бумаги с вырезанными в них фигурками, листья освещают в течение 2 - 6 час.

После экспозиции зафиксированные листья обесцвечиваются спиртом (чтобы зеленый цвет хлорофилла не маскировал происходящее затем изменение окраски) и обрабатываются раствором йода, что является качественной реакцией на крахмал.

Продолжительность затемнения, необходимого для полного обескрахмаливания листьев различна для разных растений: например, подсолнечник – 24 часа, для герани требуется 72 часа, для фасоли, настурции, сирени, кукурузы – 96 часов и т.д.

В лабораторных условиях опыт рекомендуется проводить со срезанными и поставленными в воду листьями, у которых накопление крахмала происходит быстро, так как отток продуктов отсутствует. У растений, растущих в грунте, во-первых, заменить отдельные листья можно, надев на них специально изготовленные для этой цели мешочки из плотной темной бумаги, во-вторых, экспозиция выдерживания листьев, закрытых экра-

нами с вырезанными фигурками, на свету должна быть значительно дольше, до нескольких суток, чтобы затем получились четкие крахмальные фигуры.

Цель работы: Получить «фигуры Сакса». Выявить условия, необходимые для образования крахмала.

Объект: Пеларгония зональная с полностью обескрахмаленными листьями. Для этого в 2 - 3 горшка с растениями, предварительно хорошо их полив, не менее чем за трое суток до занятий поставить в абсолютно темное место.

Ход работы:

1. Срезать здоровый лист с полностью обескрахмаленного растения, сохранив длинный черешок.
2. Сразу же пластинку листа плотно зажать между кусочками картона трафаретки, на которых вырезаны фигуры (фигуры верхнего и нижнего экранов должны совпадать). Закрепить с помощью скрепок, не повредив ткани листа.
3. Обновить срез черешка под водой и поставить лист с экраном в стаканчик с отстоявшейся водопроводной водой.
4. Выставить лист в стаканчике на яркий свет. При использовании лампы накаливания (150 и более Вт), во избежание перегрева, лист должен находиться на расстоянии не менее 30 см от лампы. Убедиться, что вырезанная фигурка хорошо освещена.
5. Через час осторожно, не повредив лист, снять экраны и поместить его на 1 - 2 мин. в кипящую воду до побурения.
6. После этого убитый (зафиксированный) лист перенести в колбу с небольшим количеством горячего спирта, предварительно нагретого на кипящей водяной бане. Кипятить лист в спирте до тех пор, пока он полностью не обесцветится, то есть до полного извлечения хлорофилла.

Нагревать следует осторожно, так как при бурном кипении может произойти выбрасывание спирта из колбы, ее для уменьшения испарения спирта необходимо закрыть воронкой. В случае интенсивного окрашивания спирта, его необходимо заме-

нить. Процесс извлечения пигментов ускоряется периодическим взбалтыванием, перемешиванием раствора.

7. Когда лист станет белым, с помощью пинцета или проводочного крючка вынуть его из колбы и опустить на 1 - 2 мин. в горячую воду для размягчения тканей (так как после действия спирта ткани становятся хрупкими).

8. Пластинку листа тщательно расправить на фарфоровой чашке в воде, затем воду слить. Лист облить слабым раствором йода (качественная реакция на крахмал).

9. Рассмотреть лист, сравнив окраску освещенного участка листа с участками, которые были затемнены.

10. Параллельно поставить опыт с листьями пестролистной пеларгонии (пункты 1 - 9), которую выдерживать в темноте не надо. Предварительно зарисовать, как располагаются зеленые и белые участки на этих листьях, а после опыта сравнить распределение крахмала с рисунком.

11. Крахмальные отпечатки можно сохранить, засушив лист между газетами под прессом. Следует отметить, что со временем отпечаток обесцвечивается, особенно при хранении на свету. Восстановить его можно раствором йода в йодиде калия (раствор Люголя).

Сделать выводы. Объяснить, какие условия необходимы для процесса фотосинтеза.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. В чем заключается роль пигментов в процессе фотосинтеза? 2. Что такое фотосенсибилизирующая роль хлорофилла? 3. Записать в виде донорно-акцепторных отношений фотолиз воды и суть модельного опыта. 4. Почему в темноте происходит обескрахмаливание листьев? 5. Почему экспозиция эксперимента на пробу Сакса сокращается, если используется срезанный лист? 6. При наблюдении каких условий образуется первичный крахмал? 7. Перечислите особенности строения листа, благодаря которым он выполняет функцию фотосинтеза.

Работа 7. Влияние условий внешней среды на интенсивность фотосинтеза водного растения (метод счета пузырьков)

Реактивы: Натрия гидрокарбонат, 1% раствор хромата (IV) калия, 4% раствор медного купороса, насыщенный аммиаком, отстаивавшаяся водопроводная вода, горячая вода, холодная вода.

Материалы и оборудование: А. Кристаллизатор с веточками элодеи, банка с содой, шпатели, электроплитка, кастрюля с кипятком, 3-литровая банка с водой в холодильнике, нитки.

Б. Лезвие бритвы, химический стаканчик на 100 - 150 мл, стеклянные палочки (2 шт.), песочные часы на 1, 3 и 5 мин., химический стакан на 600 - 800 мл, настольная лампа с электролампой (100 - 200 Вт), столик-подставка, колбы объемом 1 л с жидким цветными экранами (2 шт.), фарфоровая кружка, термометр, линейки (2 шт.).

Для характеристики интенсивности фотосинтеза могут быть использованы различные методы, но наиболее распространенными являются газометрические, основанные на учете количества или поглощенной углекислоты, или выделения кислорода. Приуроченность газов к этапам представлена на рис. 14.

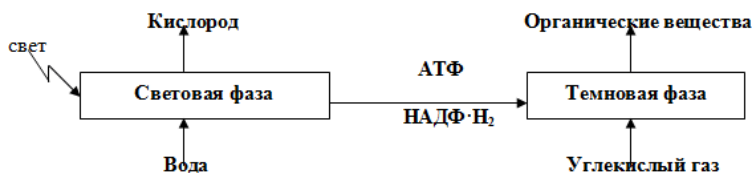


Рис. 14. Взаимосвязь этапов фотосинтеза.

Фотосинтез, как и любой физиологический процесс, зависит от условий окружающей среды. Влияние внешних условий может быть легко продемонстрировано простыми опытами с водными растениями.

Элодея (или иное водное растение), обращенная срезом стебля кверху, на свету выделяет пузырьки кислорода. Кисло-

род, образующийся в ходе фотосинтеза в равном объеме с поглощенным углекислым газом, диффундирует в окружающую растение воду значительно медленнее, чем поступает углекислота, поэтому он накапливается в межклетниках. Когда на стебле делается срез, избыток газа начинает выделяться в виде непрерывного тока пузырьков, скорость образования которых зависит от скорости процесса ассимиляции. Изменяя температуру воды, содержание углекислого газа, интенсивность и спектральный состав света, одновременно подсчитывая число выделяющихся пузырьков в единицу времени, можно определить зависимость фотосинтеза от этих условий.

Данный метод не отличается большой точностью, но очень прост в выполнении и дает наглядное представление о зависимости фотосинтеза от внешних условий.

Цель работы: Определить характер влияния внешних условий на интенсивность фотосинтеза, подсчитывая число выделяющихся пузырьков кислорода.

Объект: Веточка водного растения длиной 6 - 8 см (элодея густая, э. канадская, валлиснерия спиральная и др.), но предпочтение следует отдать элодее.

Ход работы:

1. В химический стаканчик на 100 - 150 мл налить отстоявшейся водопроводной воды комнатной температуры, внести в воду небольшое количество (на кончике ножа) соды и размешать.
2. Здоровый побег водного растения с неповрежденной верхушечной почкой закрепить на стеклянной палочке срезанным концом вверх, слегка привязав ниткой (чтобы побег не всплывал). Поместить его в химический стаканчик на 100 - 150 мл, отрегулировать положение растения так, чтобы уровень воды был выше конца побега приблизительно на 1,5 - 2 см.
3. Перед началом опыта обновить срез побега под водой при помощи лезвия бритвы для устранения возможной закупорки путей при выходе газа.

4. Стаканчик с веточкой поместить в большой химический стакан, наполненный чистой водой комнатной температуры (это теплоизоляционный белый экран).
5. Во внутренний маленький стаканчик с элодеей поместить термометр, чтобы в течение всего эксперимента контролировать температуру воды, окружающей растение.
6. Выставить подготовленную таким образом веточку элодеи на яркий свет, поставив большой стакан, внутри которого маленький с растением, на столик-подставку прямо напротив включенной электролампы. Через 2 - 3 мин. можно заметить выделение пузырьков газа со среза веточки. Если пузырьки воздуха на ярком свете не выделяются, необходимо вновь обновить срез под водой лезвием бритвы, не передавливая стебель. Быстрота выделения пузырьков будет меняться в зависимости от различных условий.

Когда ток пузырьков станет равномерным, переворачивая песочные часы, подсчитать количество выделяющихся пузырьков за определенный промежуток времени в различных условиях эксперимента. Выбор часов зависит от скорости выделения пузырьков: очень быстро – 1 мин., средняя скорость – 3 мин., очень медленно – 5 мин.

7. Изучить **влияние интенсивности освещения**. Интенсивность света, падающего на объект, обратно пропорциональна квадрату расстояния от источника света. Другими словами, если увеличить расстояние между растением и лампой вдвое, то освещенность уменьшится в 4 раза.

Помещая одну и ту же веточку на различном расстоянии от источника света, подсчитать и сравнить количество выделенных пузырьков за один и тот же промежуток времени. Сначала наблюдение провести на расстоянии 7 - 10 см, второе - на расстоянии около 20 - 25 см (расстояние измерить при помощи линейки). Затем снова вернуть стакан в первоначальное положение от источника света (7 - 10 см). Каждый раз контролировать температуру воды во внутреннем стаканчике, она должна быть постоянной. В случае отклонения температуру отрегулировать. Результаты заполнить по форме (табл. 8).

8. Исследовать *влияние спектрального состава света*. Меняя на пути лучей цветные экраны, подсчитать количество пузырьков, выделяющихся при освещении растения: 1) белым; 2) красным; 3) синим светом.

Таблица 8

Расстояние от источника света, см	Экран	Время наблюдения, мин	Температура, °C	Количество пузырьков, выделенных веточкой элодеи
	Белый			
	Белый			
	Белый Красный Синий			
	Белый			
	Белый			

В качестве цветных экранов используются растворы веществ, налитые в наружный большой химический стакан в следующей последовательности. Белый - водопроводная вода, красный - раствор бихромата калия (который поглощает сине-фиолетовую часть спектра и пропускает красные, оранжевые и желтые лучи), синий - раствор медного купороса, насыщенный аммиаком (поглощающий красную часть спектра и пропускающий сине-фиолетовую). Для этого воду в наружном стакане следует заменить на соответствующий раствор, а в него погрузить маленький стаканчик с водой и веточкой элодеи. Уровень раствора в большом стакане должен быть таким, чтобы экран перекрывал все растение.

Все три наблюдения провести с жидкостями комнатной температуры (чтобы температура водной среды растения была постоянной в течение всего опыта), на одном и том же расстоянии от источника света, с одной и той же веточкой элодеи.

Прежде чем производить подсчет количества пузырьков при том или ином экране, необходимо каждый раз выждать 2 - 5 мин., чтобы дать растению адаптироваться к изменившимся условиям (то есть прийти к состоянию равновесия). Как только установится равномерный ток пузырьков, проводить подсчет. Результаты записать в табл. 8.

9. Исследовать *влияние температуры*. Порядок наблюдений: 1) комнатная температура; 2) налить в наружный стакан горячую воду, подождать пока водная среда не нагреется до 30 - 37 °С (конкретную температуру отметить по термометру) и провести подсчет пузырьков; 3) затем в наружный стакан налить холодную воду; когда температура воды в маленьком стаканчике опустится до 10 - 17 °С, вновь провести подсчет пузырьков. Все наблюдения проводить при белом экране на одинаковом расстоянии около 7 - 10 см., результаты записать в табл. 8.

Сравнить количество выделенных пузырьков кислорода за одинаковый промежуток времени в разных условиях эксперимента. Сделать выводы, объяснить характер зависимости фотосинтеза от: 1) интенсивности освещения; 2) качественного состава света; 3) температуры.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. В какой фазе фотосинтеза выделяется кислород, каково его происхождение? 2. Почему вначале опыта в воду с веточкой элодеи добавляется гидрокарбонат натрия? 3. Почему интенсивность выделения кислорода зависит от расстояния к источнику света? 4. Почему в красных, синих лучах и суммарном белом свете количество выделенного кислорода различно? 5. Какая фаза фотосинтеза и почему зависит от температуры внешней среды? 6. Как температура влияет на выделение кислорода при фотосинтезе? 7. Почему при высоких температурах скорость фотосинтеза снижается?

ЗАДАНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ И САМОКОНТРОЛЯ

1. Какой биологический смысл красной окраски глубоководных морских водорослей?
2. Известно, что скорость фотохимических реакций не зависит от температуры. Между тем фотосинтез, осуществляющийся за счет световой энергии, подчиняется правилу Вант-Гоффа, ускоряясь в 2 - 3 раза при повышении температуры на 10°C . Как объяснить это явление?
3. Два одинаковых листа в течении трех дней были закрыты светонепроницаемыми чехлами, а затем освещены: первый лист – красным, а второй – желтым светом одинаковой интенсивности. У какого листа будет более высокое содержание крахмала? Как это объяснить?
4. Растение было освещено сначала зеленым, а затем синим светом той же интенсивности. В каких случаях будет наблюдаться более быстрое поглощение CO_2 листьями? Почему?
5. Веточка элодеи была погружена в воду и освещена сначала красным, а затем синим светом той же интенсивности. В каких случаях будут более быстро выделяться пузырьки O_2 из листьев? Как это объяснить?
6. Хлоропласты каких клеток у C_4 -растений лучше приспособлены для световых, а какие – для темновых реакций? Почему отсутствие гран в хлоропластах проводящих пучков дает определенную выгоду? Объясните.
7. В отличие от большинства растений у суккулентов устьица днем закрыты, а ночью открываются. Как протекает у них фотосинтез?
8. За какое время растение с листовой поверхностью 5 м^2 и интенсивностью фотосинтеза равной 25 мг сухого вещества на $1 \text{ дм}^2/\text{ч}$ накопит 100 г сухого вещества.
9. Сколько органического вещества выработает дерево за 30 минут, если известно, что интенсивность фотосинтеза составляет 15 мг на $1 \text{ дм}^2/\text{ч}$, а поверхность листьев составляет 6 м^2 .

10. Растение с площадью листьев 12 дм^2 усвоило 500 мг CO_2 за 6 часов. Рассчитайте интенсивность фотосинтеза данного растения.
11. Сколько органического вещества выработает дерево за 8 часов, если известно, что интенсивность фотосинтеза составляет $24 \text{ мг органического вещества на } 1 \text{ дм}^2/\text{час}$, а поверхность листьев составляет 26 м^2 .
12. За какое время растение с листовой поверхностью 8 м^2 и интенсивностью фотосинтеза равной $20 \text{ мг сухого вещества на } 1 \text{ дм}^2/\text{ч}$ накопит 100 г сухого вещества.
13. За 10 суток в процессе фотосинтеза растение с площадью листьев 650 дм^2 накопило 152 г сухой массы. Вычислите чистую продуктивность фотосинтеза.
14. За 20 мин. побег, площадь листьев которого равен 240 см^2 , поглотил 16 мг CO_2 . Определить интенсивность фотосинтеза.
15. Сколько органического вещества образует растение за 15 мин., если известно, что интенсивность фотосинтеза составляет $20 \text{ мг/дм}^2 \cdot \text{час}$, а площадь листьев – $2,5 \text{ м}^2$?
16. Растение, имеющее листовую поверхность 25 дм^2 , усвоило 860 мг CO_2 за 5 ч. Рассчитайте интенсивность фотосинтеза данного растения.
17. За 1 сутки в процессе фотосинтеза растение с площадью листьев 240 см^2 накопило $0,44 \text{ г}$ сухой массы. Вычислите продуктивность фотосинтеза.
18. За 8 часов в процессе фотосинтеза растение накопило $4,5 \text{ г}$ сухой массы. Вычислите продуктивность фотосинтеза, если площадь листьев равна 20 дм^2 .
19. Компенсационная точка у теневыносливых растений (например, липа) составляет $0,5 - 1\%$ полного дневного освещения, а светолюбивых (например, дуб) $3 - 5\%$. Какова причина различия?
20. Как объяснить хорошее естественное возобновление (рост молодых сеянцев) под пологом материнского древостоя липы, клена, вяза и полную гибель подроста березы, дуба, осины?
21. Каковы причины гибели многих лесных трав (кислицы, недотроги, майника) после вырубki леса?

22. Освещенность составляет 80% от оптимальной величины для данного растения, температуры 30% от оптимальной, все остальные влияющие на фотосинтез факторы оптимальны. Назовите факторы, увеличение которых вызовет: а) резкое усиление фотосинтеза; б) небольшое увеличение интенсивности фотосинтеза; в) не приведет к повышению интенсивности фотосинтеза?

23. Как скажется понижение концентрации кислорода на продуктивности C_3 – фотосинтеза, а как на C_4 – фотосинтезе? Объясните.

24. Как объяснить прекращение фотосинтеза срезанного и поставленного в воду листа при самых благоприятных внешних условиях?

25. Сравните световые кривые светолюбивых и теневыносливых растений (рис. 15).

26. Реализует ли растение максимально возможный фотосинтез при естественной концентрации CO_2 в атмосфере?

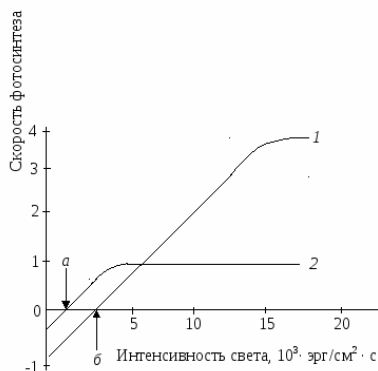


Рис. 15. Примеры световых кривых.

ВОПРОСЫ К КОЛЛОКВИУМУ

1. Что такое фотосинтез? Сущность и значение (на уровне клетки и на уровне экосистемы) фотосинтеза.
2. Лист как орган фотосинтеза. Особенности внешнего и внутреннего строения в связи с обеспечением фотосинтеза.
3. Структурная организация фотосинтетического аппарата (хлоропласт и его особенности).
4. Принципы оптимального поглощения света у растений. Антенные комплексы (ССК) и их работа.
5. Химические и оптические свойства пигментов листа:
 - a. хлорофиллы;
 - b. каротиноиды;
6. Фотофизические процессы световой фазы фотосинтеза.
7. Строение и сущность работы фотосистемы. Сравнение двух фотосистем.
8. Электронтранспортная цепь фотосинтеза. Строение и функционирование. Фотохимические процессы фотосинтеза.
9. Фотосинтетическое фосфорелирование. Хемиосмотическая теория сопряжения Митчелла.
10. Темновая фаза фотосинтеза (история открытия, химизм, локализация, значение, энергетика, физиология процесса):
 - a. цикл Кальвина-Бенсона;
 - b. цикл Хетча-Слэйка;
 - c. фотосинтез у суккулентов (САМ);
 - d. фотодыхание.
11. Сравнительная характеристика C_3 - и C_4 -растений.
12. Сравнительная характеристика световой и темновой фаз фотосинтеза.
13. Механизмы сопряжения световой и темновой фаз фотосинтеза.
14. Зависимость фотосинтеза от внутренних процессов.
15. Зависимость фотосинтеза от внешних факторов среды.

Раздел 3. ДЫХАНИЕ

Образующиеся в ходе фотосинтеза сахара и другие органические соединения используются клетками растительного организма в качестве питательных веществ. Важнейшим этапом питания органическими веществами на клеточном уровне является процесс дыхания.

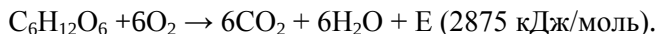
Клеточное дыхание – это окислительный, с участием O_2 распад органических питательных веществ, сопровождающийся образованием химически активных метаболитов и освобождением энергии, которые используются клетками для процессов жизнедеятельности.

Выделяющаяся при дыхании энергия (рис. 16) тратится как на процессы роста, так и на поддержание в активном состоянии уже закончивших рост органов растения. При этом, значение дыхания не ограничивается тем, что это процесс поставляющий энергию. Дыхание, подобно фотосинтезу, сложный окислительно-восстановительный процесс, идущий через ряд этапов. На его промежуточных стадиях образуются органические соединения (органические кислоты и пентозы), которые затем используются в различных метаболических реакциях. Кроме того, вода, образующаяся при дыхании, в крайних условиях обезвоживания может быть использована растением и предохранить его от гибели. Таким образом, дыхание – центральный метаболический процесс, переплетающийся многочисленными связями с другими процессами обмена.

Углеводы являются основным веществом, потребляемым при дыхании (субстратом). Определение дыхательных коэффициентов разных тканей растений показывает, что в нормальных условиях он близок к единице.

Дыхательный коэффициент (ДК) — это объемное или молярное отношение CO_2 , выделившегося в процессе дыхания, к поглощенному за этот же промежуток времени O_2 .

При нормальном доступе кислорода величина ДК зависит от субстрата дыхания. Если в процессе дыхания используются углеводы, то процесс идет согласно уравнению:



В этом случае ДК равен единице: $6\text{CO}_2/6\text{O}_2 = 1$. Однако если разложению в процессе дыхания подвергаются более окисленные соединения, например органические кислоты, поглощение кислорода уменьшается, ДК становится больше единицы. Так, если в качестве субстрата дыхания используется яблочная кислота, то $\text{ДК} = 1,33$. При окислении в процессе дыхания более восстановленных соединений, таких, как жиры или белки, требуется больше кислорода и ДК становится меньше единицы. Так, при использовании жиров $\text{ДК} = 0,7$.

Различные виды и экологические формы растений дышат с разной интенсивностью. Интенсивность дыхания значительно отличается на разных этапах онтогенеза растений и зависит от факторов внутренней и внешней среды. Так, сухие семена зерновых культур (при влажности 11 - 12 %) расходуют на дыхание ничтожно малое количество органического вещества – 0,2 % за несколько лет. Влажные семена расходуют намного большее – при влажности семян 25 % потери сухого вещества достигают 0,1 % за сутки от их веса.

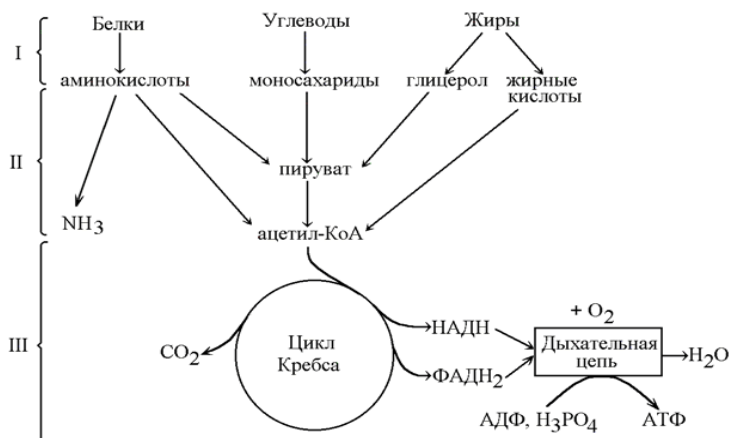


Рис. 16. Этапы расщепления органических веществ.

Работа 8. Изучение работы фермента амилазы

Реактивы: Для приготовления агаровых пластинок: агар-агар, крахмал, дистиллированная вода. Раствор Люголя (J в KJ), разбавленный в 10 раз, дистиллированная вода, 1% крахмальный клейстер, свежая солодовая вытяжка. Приготовление реактивов см. в прил. 1.

Материалы и оборудование:

А. Кристаллизаторы с сухими и проросшими семенами (2 шт.).
Б. Пинцеты (2 шт.), стерильная чашка Петри с крахмальной агаровой пластинкой, слоем толщиной 3 - 5 мм, капельница с раствором Люголя, скальпели (2 шт.), препаровальные иглы (2 шт.), электроплитка, водяная баня в виде жестяной банки объемом 250 - 500 мл, термометр, градуированная пипетка на 5 мл, градуированная пипетка на 1 мл, колбы объемом 50 - 100 мл (2 шт.) для крахмального клейстера и вытяжки амилазы, пробирка (1 шт.), маленькая фарфоровая чашка (1 - 2 шт.) или белая тарелка, песочные часы на 1, 2 или 10 мин., миллиметровая бумага размером 10 x10 см, асбестовая пластинка, сухая тряпка или щипцы.

При набухании и прорастании семян, содержащих в качестве запасных веществ крахмал, происходит усиленный синтез гидролитических ферментов амилаз, которые широко распространены в растениях (весьма активная амилаза содержится в солоде - измельченных проросших зернах злаков). При возрастании активности гидролитических ферментов (α -амилазы, β -амилазы, глюкоамилазы и амилопектин-1,6-глюкозидазы) содержание крахмала падает, а редуцирующих сахаров возрастает. Под действием фермента амилазы крахмал, представляющий собой полисахарид, молекула которого состоит из остатков глюкозы, подвергается ступенчатому расщеплению. Промежуточными продуктами являются декстрины (полисахариды разной постепенно уменьшающейся молекулярной массы), а конечным - дисахарид мальтоза.

Очень чувствительной цветной реакцией на крахмал и продукты его гидролиза является йодная проба, которая позволяет следить за ходом расщепления крахмала до конечного продукта — мальтозы. Йод окрашивает крахмал и продукты его гидролиза в разные цвета. В зависимости от величины молекулы: в типично синий, характерный для неизмененного крахмала, затем в сине-фиолетовый и фиолетовый (амилодекстрины), красно-бурый (эритродекстрины) и розово-желтый (ахродекстрины).

Когда светло-желтая окраска йода не будет изменяться, это указывает на окончание гидролиза крахмала, так как с мальтозой раствор окрашивания не дает.

Активность фермента обнаруживает большую зависимость от окружающих условий, и, в первую очередь, — от температуры и pH среды.

Задача 1. Образование амилазы при прорастании крахмалистых семян

При прорастании семян поглощается большое количество воды, начинается мобилизация запасных веществ и гетеротрофный рост проростка. В сухих семенах ферменты находятся преимущественно в связанном (неактивном) состоянии. В процессе набухания семян активность гидролаз, необходимых для превращения нерастворимых запасных веществ в растворимые, резко возрастает. Происходит переход синтезированных ранее в активное состояние и образование новых. В частности, при прорастании семян β -амилаза (которая отщепляет от крахмала концевые остатки мальтозы) переходит из связанного состояния с белками в свободное, а α -амилаза (вызывающая распад молекулы крахмала на декстрины) синтезируется вновь.

Активность гидролитических ферментов (в том числе амилаз) регулируется гиббереллинами через их действие на нуклеиновые кислоты. Гибберелловая кислота является веществом-эффектором, дерепрессирующим ген, ответственный за синтез α -амилазы. Другие амилазы синтезируются в процессе формирования зерна, а затем в большинстве своем инактивиру-

ются, соединяясь дисульфидными мостиками с запасными белками клеток эндосперма. Этим объясняется термостабильность связанной амилазы. В процессе прорастания зерна гранулы белка распадаются при участии гибберелловой кислоты (рис. 17), что приводит к активному распаду крахмала.

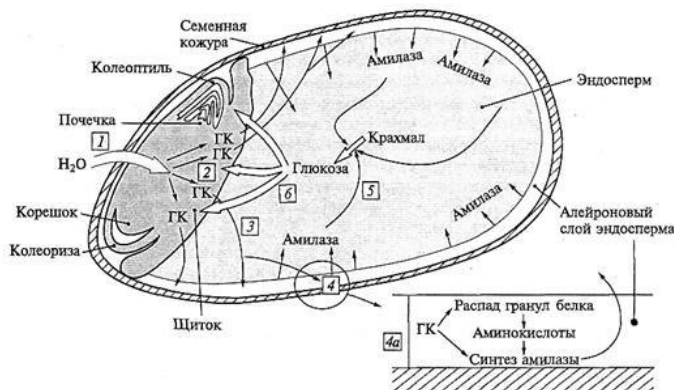


Рис. 17. Схема активации амилазы.

Ферменты могут действовать не только в той клетке, которая их вырабатывает, но и вне ее, перемещаясь в другие клетки или диффундируя во внешнюю среду. Чтобы наблюдать выделение ферментов из клеток семян злаков, необходимо разрезать зерновки, так как семенная кожура и околоплодник препятствуют диффузии веществ.

Цель работы: Убедиться, что фермент амилаза переходит в активное состояние при прорастании семян.

Объект: Сухие и проросшие семена пшеницы или ячменя.

Ход работы:

1. Взять стерильную чашку Петри с крахмальной агаровой пластинкой.
2. Разрезать около 5 шт. непроросших сухих зерен пополам вдоль зародыша, слегка смочить их водой и разложить с помощью пинцета на одной половине пластинки из крахмального

агара поверхностью среза вниз, не вдавливая семена в пластинку.

3. На другую половину агаровой пластинки поместить несколько проросших семян (желательно с корешками) того же растения, также разрезав их пополам вдоль зародыша и смочив поверхность среза водой. Закрыть чашку крышкой, чтобы не было подсыхания.

4. Через 1 час осторожно снять пинцетом семена, стараясь не разрушить верхнюю пленку агаровой пластинки, и облить всю ее поверхность слабым раствором йода для проверки на наличие крахмала.

5. Рассмотреть пластинку: сравнить окраску участков, где лежали проросшие и непроросшие семена с окраской остальных нетронутых участков крахмальной агаровой пластинки, зарисовать ее вид после обработки реактивом.

Сделать вывод, объяснив полученные результаты.

Задача 2. Определение температурного оптимума амилазы

Определение температурного оптимума проводится колориметрическим методом на основании сравнения скорости гидролиза крахмала под действием амилаз при температурах в пределах от 20° до 90°С.

Цель работы: Провести полный гидролиз крахмала до мальтозы. Определить как влияет на скорость осахаривания крахмала ферментом температура внешней среды. Определить оптимальные температурные условия работы фермента, при которых его активность достигает максимальной скорости.

Объект: Солод из семян ячменя, пшеницы.

Ход работы: Опыт проводится всей подгруппой вместе, при этом каждая пара студентов определяет скорость гидролиза крахмала при определенной температуре из следующего ряда: 20, 40, 50, 60, 70, 80, 90 °С. Если весь эксперимент проводится только одной парой студентов или одним человеком, то опыт целесообразно вести в такой последовательности: вначале одно-

временно заложить опыт при 20, 40 и 90 °С, а затем по мере окончания одного из них, закладывать последующие, то есть используя сразу три водяные бани, три термометра и т.д.

1. Нагреть водяную баню до нужной температуры. Поместить в нее термометр, так как в течение опыта **температура должна поддерживаться постоянной!**

2. В пробирку налить 5 мл 1% крахмального клейстера (всего в эксперименте подгруппы участвует 7 пробирок).

3. Пробирку с крахмальным клейстером поместить в водяную баню, подождать 2 - 3 минуты, пока клейстер прогреется до температуры бани. Прилить 0,4 мл (до 1 мл) фермента амилазы, размешать (пипетку оставить в пробирке) и отметить время начала опыта, перевернув в первый раз песочные часы.

4. Через определенное время взять пипеткой небольшое количество смеси из пробирки в фарфоровую чашку, добавить 1 - 2 капли раствора йода. В этом заключается проба на присутствие крахмала. Частота отбора проб: при 90° — каждые 10 мин., при 20°, 40°, 50° и 80° — каждые 2 мин., при 60° и 70° — каждую минуту. Результаты фиксировать в табл. 9.

Таблица 9

	Отбор проб при температуре °С										Продолжительность гидролиза, мин
	Минуты										
Окраска раствора											

5. Установить время первого появления красноватого окрашивания, которое указывает на исчезновение крахмала.

6. Отметить время окончания гидролиза, о чем говорит неизменяющаяся желтая окраска йода. Не обнаружив крахмала и декстринов, прилить несколько капель йода в пробирку для проверки полноты гидролиза.

7. Вычислить активность фермента при расщеплении одинаковых количеств субстрата, считая мерой активности величину, обратную времени реакции: 100/t.

Таблица 10

Температура, °C	Время гидролиза t, мин	Активность фермента, 100/t
20		
40		
50 и т.д.		

8. Объединить результаты всей подгруппы и записать в табл. 10. Построить график зависимости активности фермента от температуры (рис. 18).

Активность амилазы

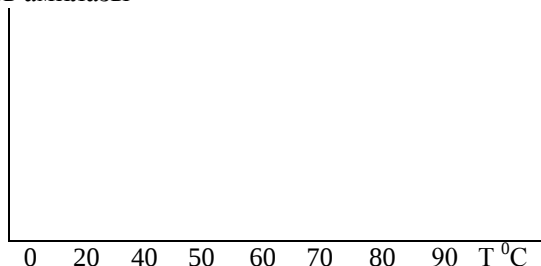


Рис. 18. График зависимости активности амилазы от температуры внешней среды.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. Почему проросшие и непроросшие семена оказали разное действие на крахмальную агаровую пластинку? В чем заключается это воздействие? 2. Какой вид имеет кривая зависимости активности фермента от температуры? В каких пределах лежит температурный оптимум и максимум работы амилазы? 3. Где при прорастании семян вырабатываются гиббереллины, куда они затем диффундируют и какую функцию выполняют? 4. Что служит субстратом для амилазы? Почему амилаза столь важна при прорастании семян хлебных злаков?

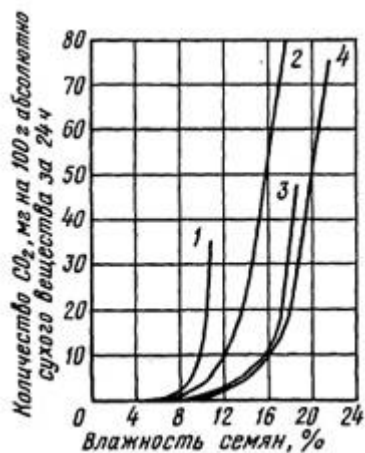


Рис. 19. Зависимость интенсивности дыхания масличных семян от влажности и содержания жира:

- 1 – кешевина (53,5% жира)
- 2 – подсолнечник (40,9 % жира)
- 3 – хлопчатник (25,1% жира)
- 4 – соя (21,1% жира).

Работа 9. Превращение запасных веществ при прорастании семян

Реактивы: Концентрированный раствор Люголя (J в KJ), разбавленный дистиллированной водой в 3 раза, фелингова жидкость, раствор краски Судан-III, дистиллированная вода. Приготовление реактивов см. в прил. 1.

Материалы и оборудование:

А. Большие кристаллизаторы с проросшими семенами, накрытые черной бумагой (2 шт.), маленькие кристаллизаторы с сухими семенами (2 шт.)

Б. Микроскопы (2шт.), электроплитка, водяная баня в виде жестяной банки объемом на 250 - 500 мл, пробирки (8 шт.), фарфоровые ступки с пестиками (по 4 шт.), колба с водой, восковой карандаш, скальпели (2 шт.), препаровальные иглы (2 шт.), стеклянные палочки (2 шт.), лезвия бритвы (2 шт.), капельницы с красителями (2 шт.), предметные и покровные стекла (по 4 шт.), штативы для пробирок (2 шт.), колба на 100 мл с фелинговой жидкостью, небольшие кусочки марли (2 шт.), шпатели (4 шт.), линейки (2 шт.).

Основой существования любой живой системы является обмен веществ. При нормальных условиях развития зеленых растений процесс ассимиляции всегда превышает диссимиляцию. Но на первых стадиях развития, при прорастании семян в темноте, клетки питаются гетеротрофно за счет мобилизации запасных органических веществ.

Семена в качестве питательного резерва содержат белки, жиры и углеводы. В масличных семенах (клешевина, подсолнечник, лен) жиры преобладают над углеводами и белками. У злаков основным запасным веществом служит крахмал (крахмалистые семена), в семенах других растений довольно высокое содержание белков (бобовые).

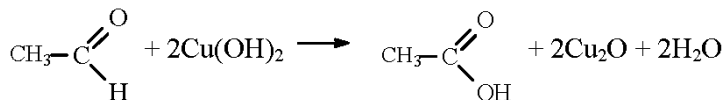
При прорастании семян за счет поглощения большого количества воды активность гидролаз возрастает, в результате сложные макромолекулярные формы запасных веществ пре-

вращаются в более простые, растворимые, транспортабельные соединения, которые далее используются в процессе роста и дыхания.

Для того чтобы установить каким превращениям подвергаются запасные вещества при прорастании, нужно сопоставить химический состав непроросших семян и проростков, выросших из этих семян. Проращивание необходимо обязательно проводить в темноте, чтобы исключить новообразование органических веществ в процессе фотосинтеза.

Углеводы в растительном материале могут быть в виде растворимых в воде сахаров (моносахариды, дисахариды) и в виде нерастворимых полисахаридов (крахмал, клетчатка и т.д.). При распаде крахмала сначала возникают декстрины (качественная реакция - йодная проба), которые затем расщепляются вплоть до образования редуцирующих сахаров. Все моносахариды (глюкоза, фруктоза), а также дисахариды типа мальтозы благодаря присутствию альдегидной или кетонной группы являются редуцирующими, то есть обладают восстанавливающими свойствами. Тогда как сахароза – нередуцирующее вещество, так как ее молекула состоит из остатков глюкозы и фруктозы, соединенных за счет альдегидной группы глюкозы и кетонной группы фруктозы.

Характерная реакция на редуцирующие сахара - восстановление фелинговой жидкости, представляющей собой смесь медного купороса, едкого натра и сегнетовой соли. При этом оксид меди (II) восстанавливается в оксид меди (I), выпадающий в виде кирпично-красного осадка:



По количеству осадка можно судить о количестве редуцирующих веществ в исходном материале.

У семян масличных растений распад запасных жиров начинается на 2-3 сутки от начала набухания и проходит в три этапа: распад на глицерин и жирные кислоты; β - окисление жирных

кислот до ацетил-СоА; а ацетил-СоА и глицерин затем могут подвергаться либо дальнейшему окислению, либо превращаются в другие соединения и передвигаются к точкам роста. Специфической реакцией на липиды является окрашивание их спиртовым раствором липофильного красителя Судан- III. О наличии жиров свидетельствует появление через несколько минут ярко-оранжевой окраски.

Цель работы: Установить природу запасных веществ и характер превращений, которым они подвергаются при прорастании семян и проростков.

Объект: Семена пшеницы и подсолнечника в двух вариантах: сухие и проросшие в полной темноте (чтобы исключить фотосинтетическое образование сахаров) при температуре 25 °С с 4 - 8-дневными этиолированными проростками.

Ход работы:

1. Взять приблизительно по 15 шт. проросших и непроросших семян (один студент в паре работает с пшеницей, другой – с подсолнечником). Семена подсолнечника очистить от шелухи.
2. Растереть семена и проростки в 4 отдельных ступках.
3. Перенести растительный материал (одинаковое количество) в соответствующие подписанные пробирки. Добавить воду во все пробирки приблизительно на $\frac{1}{2}$ их объема.
4. Поместить пробирки в кипящую водяную баню и нагревать их в течение 10 - 15 мин. для экстракции растворимых веществ, в этот 10 - 15-минутный перерыв начать выполнять задание пунктов 8 и 9.
5. Слить приготовленные вытяжки в другую пару соответственно подписанных чистых пробирок, оставив мезгу (осадок) в первых двух. Для тех, кто работает с подсолнечником: так как мезга семян после кипячения всплывает вверх, при переливании вытяжек необходимо воспользоваться марлей.

С этого момента в работе у каждого студента участвуют четыре пробирки: две с мезгой (проросшие и непроросшие семена) и две с соответствующими вытяжками.

6. Прилить к вытяжкам равный объем фелинговой жидкости и довести до кипения на водяной бане. Слабо кипятить, начиная с появления пузырьков, 3 - 5 мин. Вынув пробирки из бани, рассмотреть их содержимое. По количеству образовавшегося кирпично-красного осадка оксида (I) меди дать оценку содержания в исходном материале редуцирующих сахаров (табл. 11).

7. К оставшемуся в первых двух пробирках материалу (мезге) прилить раствор йода и по интенсивности посинения дать оценку содержания крахмала или промежуточных продуктов его гидролиза. Результаты записать в табл. 11.

Таблица 11

Семена	Содержание *			
	Крахмал	Жиры	Декстрины	Редуцирующие сахара
Крахмалистые 1. непроросшие (сухие) 2. проросшие				
Масличные 1. непроросшие (сухие) 2. проросшие				

* Примечание. Содержание соответствующих веществ оценить количеством «+» («0» - нет; «+» - мало; «++» - много; «+++» - очень много).

8. Сделать тонкие срезы непроросших и проросших семян подсолнечника, поместить на предметное стекло в капли краски Судан-III, закрыть покровными стеклами, легонько надавив на них (например, держателем препаровальной иглы). Через 5 мин. Промыть срезы и рассмотреть под микроскопом при малом увеличении. Дать оценку содержания жира – по количеству и размеру блестящих капель, окрашенных в красный или оранжевый

цвет. Зарисовать результаты.

9. Взять препаровальной иглой из разрезанной вдоль зерновки (отдельно непроросших и проросших семян пшеницы) небольшое количество эндосперма вблизи зародыша, растереть в капле воды на предметном стекле и, накрыв покровным стеклом, рассмотреть под микроскопом при малом увеличении. Отметить количество, размер, внешний вид, форму крахмальных зерен. Зарисовать строение крахмальных зерен до начала прорастания семян и после.

Сделать выводы о превращении углеводов и жиров при прорастании крахмалистых и масличных семян.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. Для чего нужны запасные вещества в семенах? Каковы основные запасные вещества семян? 2. В чем состоит сущность подготовительного этапа мобилизации дыхательных субстратов? 3. Что такое редуцирующие сахара, привести примеры? Как их можно обнаружить? 4. Образуются ли сахара при прорастании семян, содержащих жиры в качестве основного запасного вещества? Каким образом?

ЗАДАНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ И САМОКОНТРОЛЯ

1. Почему интенсивность дыхания растений резко возрастает при увеличении содержания O_2 в окружающей среде от 1 до 6%, а при дальнейшем повышении содержания кислорода почти не изменяется?
2. Почему высшие растения, не могут длительно поддерживать свою жизнь анаэробных условиях, хотя и не погибают сразу после попадания в среду без кислорода?
3. Как объяснить разную величину дыхательного коэффициента прорастающих крахмалистых и маслянистых семян?
4. Дыхательный коэффициент семян подсолнечника 0,8. Сколько CO_2 выделяют семена при дыхании, если известно, что они поглотили 56 мг O_2 .
5. Сколько CO_2 выделяет 1 кг семян за 10 суток, если известно, что интенсивность дыхания этих семян равна 0,2 мг CO_2 на 1 г сухой массы в час, а содержание воды в семенах 35,7 %.
6. Дыхательный коэффициент семян подсолнечника 0,8. Сколько CO_2 выделяют семена, если они поглотили 24 мг O_2 .
7. Дыхательный коэффициент семян подсолнечника 0,8. Сколько O_2 поглотят семена при дыхании, если известно, что они выделили 32 мг CO_2 .
8. Дыхательный коэффициент семян рапса 0,7. Сколько CO_2 выделяют семена при дыхании в течение суток, если они поглотили 480 мг O_2 .
9. Сколько CO_2 выделяют 5 кг семян за 4 суток, если известно, что интенсивность дыхания этих семян равна 0,15 мг CO_2 на 1 г сухой массы в час, а содержание воды в семенах составляет 28%.
10. В процессе дыхания яблоки выделили 240 мг CO_2 . Сколько кислорода они поглотили, если известно, что их дыхательный коэффициент составляет 1,2.
11. Почему нельзя хранить влажные семена?
12. Некоторые считают, что вредно оставлять цветы на ночь в комнате, так как они поглощают кислород, необходимый для дыхания человека. Чтобы ответить на вопрос, насколько обос-

нованно это мнение, посчитайте, до какой величины снизится содержание кислорода против обычного (21 % по объему) воздухе комнаты объемом 45 м^3 в течение 10 час. за счет дыхания растений, имеющих общую массу 2 кг и среднюю интенсивность дыхания 12 мл O_2 на 1 г в сутки.

13. Зелёный лист на свету при 25°C интенсивно поглощал CO_2 , а при повышении температуры до 40°C начал выделять углекислый газ. Как объяснить отмеченное изменение газообмена листа?

14. Известно, что в период весеннего сокодвижения в пасоке древесных растений содержится много растворимых сахаров. Каково их происхождение?

15. За 2 суток 10 кг яблок выделили 150 г CO_2 . Рассчитайте интенсивность дыхания плодов.

16. В процессе дыхания яблоки выделили 240 мг CO_2 . Сколько кислорода они поглотили, если известно, что их дыхательный коэффициент составляет 1,2.

17. В 2 колбы налито одинаковое количество раствора КОН. Колбы плотно закрыты пробками с крючками, к которым подвешены марлевые мешочки с одинаковыми навесками проросших и непроросших семян. По истечении одинакового времени раствор в колбах оттитровали соляной кислотой. На титрование какой колбы пойдет больше кислоты? Объясните.

18. 15 г почек выделили за 30 мин 3 мг CO_2 . Определить интенсивность дыхания 1 г сухой массы за час, если известно, что содержание воды в почках составляет 60%.

19. Сколько CO_2 выделит 1 кг семян за 10 суток, если известно, что интенсивность дыхания этих семян равна $0,1 \text{ мг CO}_2$ на 1 г сухой массы в час, а содержание воды в семенах 37,5%?

20. Были взяты 2 навески семян по 10 г каждая. Одну навеску высушили при 100°C для определения абсолютно сухой массы, которая оказалась равной 8,8 г. Вторую порцию семян проращивали в течение двух недель в темноте на чистом песке, смоченном дистиллированной водой. Полученные проростки имели сырую массу 21,7 г, а абсолютно сухую – 7,0 г. Как объяснить изменение сырой и сухой массы в процессе прорастания?

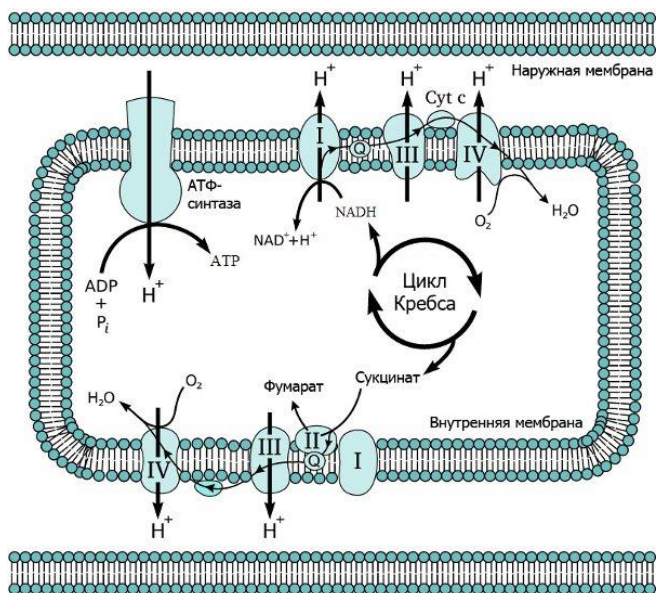


Рис. 20. Схема процессов дыхания в митохондри.

ВОПРОСЫ К КОЛЛОКВИУМУ

1. Процесс окисления, типы окисления.
2. Митохондрии. Строение, функции.
3. Оксидоредуктазы, их химическая природа и функции:
 - а) дегидрогеназы анаэробные;
 - б) дегидрогеназы аэробные;
 - в) оксидазы.
4. Энергетика дыхания. Электрон-транспортная цепь дыхания: структурная организация, компоненты, принципы работы.
5. Окислительное фосфорилирование.
6. Химизм дыхания (место локализации, химизм, энергетика, особенности стадий, значение функции):
 - а. Гликолиз,
 - б. Цикл Кребса,
 - с. Глиоксилатный цикл,
 - д. Пентозофосфатный путь окисления,
 - е. Обращенный гликолиз, глюконеогенез.
7. Роль дыхания в жизни растений. Сравнение процессов дыхания и фотосинтеза.
8. Зависимость дыхания от внутренних и внешних факторов.
9. Общие закономерности дыхания в онтогенезе. Распределение максимумов дыхания разных органов в ходе онтогенеза.
10. Дыхательный коэффициент и его зависимость от внутренних и внешних факторов.

РАЗДЕЛ 4. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ

Для роста и развития растениям необходимы ресурсы окружающей среды. Кислород и водород растения берут из воды, углерод черпают из CO_2 воздуха, атмосферный кислород также вовлекается в процессы дыхания. Важным поставщиком азота и элементов, входящих в состав золы, является почва.

Все необходимы для жизни растений элементы в зависимости от их количественного содержания в растении принято разделять на макроэлементы (содержание больше 0,01%) - к ним относятся N, P, S, K, Ca, Mg, Fe и микроэлементы (содержание менее 0,01%) - к ним относятся Mn, Cu, Zn, B, Mo и др.

Общее количество минеральных элементов в составе растения весьма незначительно, при этом их значение для роста и развития очень велико. Они входят в состав биологически важных органических веществ; участвуют в создании определенной ионной концентрации и стабилизации макромолекул; участвуют в каталитических реакциях, входя в состав или активируя отдельные ферменты.

Изучение роли элементов минерального питания удобнее проводить используя водную культуру. Регулируя состав питательного раствора можно выявить зависимость роста и развития растений от их минерального питания.

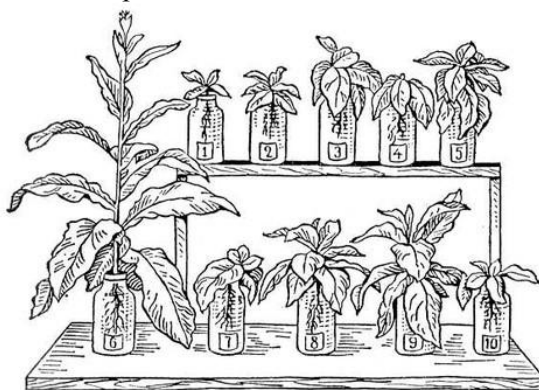


Рис. 21. Рост растения в разных питательных растворах.

Работа 10. Антагонизм ионов

Реактивы: Отдельные растворы химически очень чистых перекристаллизованных солей: 0,12 н. KCl; 0,12 н. CaCl₂; 0,12 н. NaCl, дистиллированная вода.

Материалы и оборудование:

А. Сосуды с заранее приготовленными большими объемами (более 1 л) отдельных исходных трех растворов (3 шт.), мерные цилиндры на 250 мл (3 шт.), длинные стеклянные палочки (2 шт.), восковой карандаш, растильни с проростками, пророщенными в кварцевом песке.

Б. Химические стаканчики на 150 мл (5 шт.), черная бумага (5 шт.), специальные крышки из оргстекла для закрепления растений (5 шт.), булавки, мел, колба с водой, маленький кристаллизатор, большой кристаллизатор, пинцеты (2 шт.), линейки (2 шт.).

На растворах, содержащих только одну какую-либо соль, растения развиваются хуже, чем на смеси солей, так как каждый ион в отдельности (даже питательных элементов) угнетает рост и развитие растений и даже может вызвать их гибель. Тогда как в смеси ионов повреждающее действие, вызываемое каждым из компонентов в отдельности, нейтрализуется другими ионами.

Взаимное ослабление ионами оказываемого ими действия получило название **антагонизма** ионов. В основе этого явления лежит воздействие катионов на коллоидно-химические свойства цитоплазмы. Подбирая различные концентрации отдельных ионов, можно составить такую комбинацию, при которой данные растения будут развиваться наилучшим образом. Такой раствор называется уравновешенным, так как в нем происходит взаимное уравнивание одно- и двухвалентных ионов.

Предельно допустимая концентрация катионов и анионов уравновешенных растворов составляет примерно 30 ммоль/л. Примером уравновешенных растворов являются питательные растворы для выращивания растений на водной культуре. Природные воды (речная, озерная, прудовая, колодезная, морская)

также являются физиологически уравновешенным, как и раствор нормальных почв. Тогда как дистиллированная вода, содержащая только ионы H^+ , непригодна для длительного использования при выращивании растений. К неуравновешенным относятся почвенные растворы засоленных и сильнокислых почв.

Противодействие ионов можно объяснить влиянием их на проницаемость плазмалеммы, гидратацию белков цитоплазмы, а также конкуренцией за места связывания на поверхности цитоплазматических мембран и клеточных стенок переносчиками и активными центрами ферментов. Например, увеличение концентрации одновалентных катионов в цитоплазме вызывает увеличение гидратации ее компонентов. Повышение концентрации двухвалентных катионов индуцирует обратный эффект, а именно уменьшение оводненности составляющих ее структурных элементов.

Кальций играет роль главного антагониста других катионов, в том числе и ионов водорода. При достаточной концентрации этого элемента растения меньше страдают от кислотности питательного раствора, но при высокой концентрации Са уменьшается усвоение Mg и K. В качестве примера физиологического антагонизма можно привести пары ионов: Al и P, P и Fe, Ca и Fe, Ca и K и т.д., первые осаждают вторые в тканях и тем самым выводят из сферы реакций обмена веществ.

Взаимодействие и взаимовлияние ионов может носить иной характер. Если воздействие, оказываемое каким-либо ионом на физико-химические свойства протоплазмы при прибавлении другого иона усиливается, такое явление называется *синергизмом*. Так, при определенных концентрациях и соотношениях ионов, например, калия и кальция, фосфатов и сульфатов, наблюдается ускорение поглощения одних ионов в присутствии других по сравнению с их поглощением из растворов одиночных солей.

Наконец следует отметить строгое суммирование действия присутствующих в растворе солей – *аддитивизм*. Это наблюдается при осмотических явлениях: осмотическое давление соле-

вой смеси равно сумме парциальных осмотических давлений солей, входящих в смесь.

Цель работы: Изучить антагонистическое действие катионов K^+ , Ca^{2+} и Na^+ на рост корней и надземных органов растений.

Объект: 3 - 5-дневные проросшие зерновки пшеницы с длиной корешков 1,5 - 2 см. Методика проращивания семян дана в прил. 1.

Ход работы: Успех опыта будет зависеть от чистоты химических реактивов (поэтому их необходимо предварительно перекристаллизовать) и от тщательности и чистоты его проведения!

1. Взять пять химических стаканчиков на 150 - 200 мл, обернуть их плотной черной непроницаемой для света бумагой, закрепить ее с помощью булавок. Подписать мелом номера вариантов опыта (табл. 12) и фамилии студентов.
2. Приготовить растворы и смеси растворов в соответствии со схемой опыта (табл. 12) и налить их в стаканчики.
3. Тщательно отобрать здоровые проростки (25 шт.) с приблизительно одинаковыми линейными параметрами ростков и корней.
4. На специальные крышки высадить одинаковое количество (по 5 шт.) проростков пшеницы, но сначала перед высадкой измерить у них длину корневой системы и высоту надземной части. Проростки удобнее просовывать снизу колеоптилем, а не сверху корешками. При закреплении их в отверстиях необходимо следить за тем, чтобы корешки не обломались.
5. После того, как растения будут закреплены на крышках, тщательно промыть крышку и корни дистиллированной водой. С этого момента корни нельзя задевать руками!
6. Крышки с проростками поставить на стаканчики, погрузив корни в раствор. Необходимо проследить, чтобы корни не были зажаты и чтобы все они обязательно доставали поверхности раствора. Сосуды с растениями выставить на свет.

Таблица 12

№ варианта	Состав раствора	Объем компонентов смеси, мл	Номер проростка	Высота надземной части, см			Длина корней, см		
				А *	В	Прирост	А	В	Прирост
1	NaCl	200	1						
			2						
			3						
			4						
			5						
			Среднее						
2	KCl	200	1 и т.д.						
3	CaCl ₂	200	1 и т.д.						
4	KCl CaCl ₂	150 50	1 и т.д.						
5	KCl NaCl CaCl ₂	100 50 50	1 и т.д.						

* А – размеры до опыта;

В – размеры после опыта.

7. В течение недели следить за уровнем раствора в стаканчиках, подливая дистиллированную воду.

8. Через 7 - 14 дней опыт завершают. При этом необходимо измерить высоту проростков, число и длину корней у всех пяти растений пяти вариантов. Описать внешний вид проростков и корневой системы. Результаты опыта записать по форме (табл. 12) и отобразить на графике среднюю величину прироста корней и побегов растений выращенных в каждом варианте (рис. 22).

Сделать выводы о характере роста и развития растений в растворах отдельных солей и в смеси солей.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое антагонизм ионов, его проявление, природа и значение в жизни растений? 2. Какие растворы называются физиологически уравновешенными, их практическое использование? 3. Как объяснить неодинаковый рост растений на растворах отдельных солей и на смеси, содержащей одно- и двухвалентные катионы? 4. Какие органы растения сильнее реагируют на ионный состав среды, какие признаки повреждения для них характерны? 5. Что такое аддитивизм и синергизм ионов?

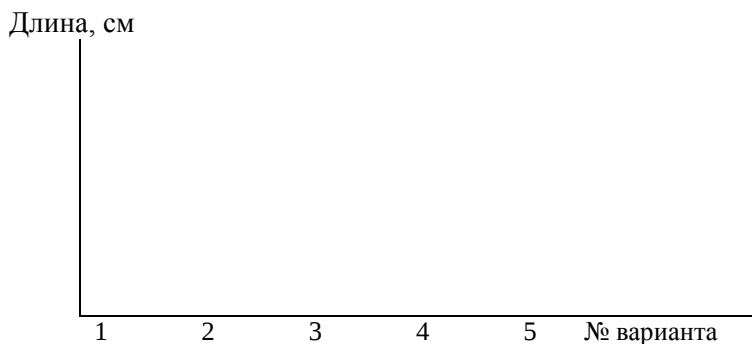


Рис. 22. Прирост длины корня и побега растений, выращенных на разных по составу растворах.

Работа 11. Изучение корневой системы растений как органа поглощения минеральных веществ

Реактивы: Хромовая смесь, дистиллированная вода, 0,0002М раствор метиленового синего (64 мг/л), 1% раствор хлорида калия, 96% этиловый спирт.

Материалы и оборудование:

А. Сосуды с проростками растений на марлевых пропарафинированных крышках, выращенные на водной культуре, вата, нитки, ФЭК, сушильный шкаф, мерная колба с разбавленным в 10 раз исходным раствором метиленового синего (МС), калибровочная кривая в интервале концентраций МС 0 - 6,4 мг/л, кусочки фильтровальной бумаги, маленький пинцет, колба со спиртом, кюветы с рабочей длиной 10 мм (10 шт.), сосуд с раствором хлорида калия.

Б. Объемометр, резиновая пробка с отверстием и разрезанная пополам, чугунный штатив с 2 лапками, большой кристаллизатор, колба с водой, ножницы, лезвия бритвы (2 шт.), фильтровальная бумага 10*10 см, пинцеты (2 шт.), колба с исходным раствором МС, подписанные пронумерованные химические стаканчики на 150 - 200мл (; шт.), подписанные колбы на 100 мл (3 шт.), секундомер, мерный цилиндр на 50 мл (1 шт.), градуированная пипетка на 10 мл (1 шт.), градуированная пипетка на 5 мл (4 шт.), линейки (2 шт.).

Хорошей сравнительной характеристикой корневой системы является величина ее поглощающей поверхности. Измерение геометрической поверхности корня чрезвычайно трудоемко; кроме того, оно не дает достаточно точного представления о поверхности, деятельной в процессе поглощения веществ. Физиологи Д.А. Сабинин и И.И. Колосов разработали метод определения адсорбирующей поверхности корня. В основе метода лежат современные представления о механизме поглощения веществ корнем.

Первым этапом поглощения элементов минерального питания является полярная адсорбция ионов поверхностью расте-

ния. У водных организмов адсорбирует вся их поверхность, у высших наземных растений – корневая система. Благодаря амфотерности биокolloидов поверхность живых клеток имеет как положительные, так и отрицательные заряды, но последние преобладают. Поэтому положительные ионы адсорбируются больше, чем отрицательные. Адсорбция ионов корневой системой сопровождается также эквивалентным обменом их на другие – ранее находившиеся на поверхности, главным образом ионы H^+ и HCO^- , которые образуются в процессе дыхания клеток.

При допущении того, что ионы или молекулы при адсорбционном насыщении поверхности располагаются в один слой, можно определить величину площади, на которой эти ионы адсорбируются. Для этого нужно знать:

- 1) количество адсорбированного вещества;
- 2) величину площади, которую займет один миллиграмм данного вещества при распределении его на этой площади мономолекулярным слоем.

Цель работы: Определить объем корневой системы и размеры общей и рабочей поверхностей корневой системы.

Объект: 10 - 15-дневные проросшие зерновки пшеницы с развитой корневой системой, выращенные методом водной культуры.

А. Определение объема корневой системы.

Для измерения объема корней служит объемомер, состоящий из цилиндра, дно которого соединяется каучуковой трубкой с градуированной пипеткой (с делениями на 0,1 мл). Эту пипетку укрепляют в зажиме так, чтобы ее можно было ориентировать под желаемым углом к горизонтали. В цилиндр наливают дистиллированную воду в достаточном количестве для погружения измеряемой корневой системы, а пипетку устанавливают на такой высоте, чтобы мениск воды оказался у нижнего края градуированной части пипетки, обращенной к каучуковой трубке. Чувствительность прибора определяется углом наклона пипетки. Чем ближе расположена пипетка к горизонтальному направлению, тем чувствительней прибор (рис. 23). Во время

всего опыта положение пипетки должно оставаться постоянным. Внутренние части его должны быть обезжирены хромовой смесью.

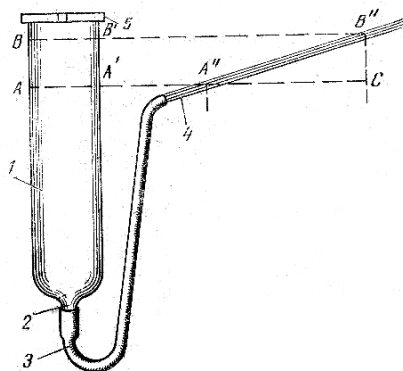


Рис 23. Прибор Д.А. Сабина и И.И. Колосова для определения объема корней:

- 1 - цилиндрический сосуд с оттянутым концом (2); 3 - каучуковая трубка; 4 - градуированная пипетка; 5 пробка;
- AA¹ - исходный уровень воды в цилиндре;
- BB¹ -уровень воды в цилиндре после погружения корней;
- A¹¹ -исходное положение мениска в пипетке; B¹¹ - положение мениска в пипетке после погружения корней.

Ход работы:

1. У 15 - 30 проростков злаков отрезают зерновки. Проростки собирают в пучок так, чтобы корневые шейки у всех растений были на одном уровне. Пучок укрепляют с помощью ваты в отверстии разрезанной по вертикали до каучуковой пробки. Обе половинки пробки связывают ниткой. Влажной фильтровальной бумагой удаляют с корней прилипшие капли воды. Подобную операцию выполняют и с другими растениями. Отмечают положение мениска (A¹¹) в пипетке объемометра и погружают корни в цилиндр так, чтобы уровень воды был на уровне шейки корней.
2. После погружения корневой системы в объемометр уровень жидкости в цилиндре повысится и вызовет сдвиг мениска в пи-

петке до положения B^{11} . После этого корни вынимают из цилиндра, дают стечь воде с корней в цилиндр и, не меняя наклона пипетки, доливают в цилиндр воду, пока мениск в пипетке не займет вновь положение A^{11} . Снова погружают корни в цилиндр и определяют положение мениска B^{11} . Вынув корни, не меняя наклона пипетки, устанавливают мениск в положение A^{11} и затем при том же положении пипетки приливают в цилиндр такое количество воды, при котором мениск дойдет до положения B^{11} . Делать это удобнее пипеткой на 5 мл. Прилитый объем воды равен объему измеряемых корней.

Объем корней определяют 3 раза и рассчитывают среднюю величину. Работу следует выполнять быстро, чтобы исключить ошибки связанные с поглощением воды корнями. Между измерениями корни погружают в кристаллизатор с водой. Результаты исследований заносят в табл. 13.

Таблица 13

Вид растения	Измерения (объем прилитой воды), мл				Количество растений в пучке, шт.	Объем корневой системы одного растения, $см^3$
	1	2	3	Среднее		

Б. Определение адсорбирующей поверхности корня.

Процесс поглощения веществ условно делится на две фазы: 1) фазу адсорбции ионов поверхностью клеточной стенки и цитоплазматической мембраны и 2) фазу активного проникновения ионов через плазмалемму. Но активное поглощение осуществляется не всей поверхностью корня. Различают общую, рабочую и недействительную поверхность корневой системы.

Адсорбция – поверхностное поглощение (концентрирование) частиц одного вещества на поверхности другого – возможна благодаря амфотерности биокolloидов поверхности живых клеток.

Общей адсорбирующей поверхностью является вся поверхность корневой системы. При этом недействительная ее часть покрыта пробковой тканью и способна только к адсорбции рас-

творенных веществ, в результате чего у растений очень быстро наступает предел поглощения ионов.

Активное поглощение связано с продвижением адсорбированного иона внутрь клеток корня. На освободившееся место из раствора адсорбируется новый ион. По количеству ионов, поглощенных после достижения адсорбционного насыщения, судят о величине поглощающей, рабочей поверхности корня.

В качестве адсорбируемого вещества берут такое, которое не содержится в корневой системе и в то же время является безвредным. Очень удобна метиленовая синяя краска. Это основная краска, т. е. соединение у которого окрашенным является катион. Отрицательные заряды поверхности корня удерживают катионы метиленовой синей так же, как и любые другие катионы.

Количество поглощенной корнем метиленовой синей можно определить по изменению концентрации ее в опытном растворе. Расчет площади, занимаемой 1 мг мономолекулярного слоя метиленовой синей, показал, что он равен $1,1 \text{ м}^2$.

Ход работы:

1. Определив объем корневой системы (п. А), наливают в три стакана раствор метиленовой синей краски, в каждом стакане объем раствора должен быть в 10 раз больше объема корня. Корни после удаления прилипшей к ним воды погружают в первый стакан с метиленовой синей. Через 1,5 мин вынимают корни, не ожидая стекания с них краски, и сейчас же переносят их во второй стакан. Через 1,5 мин вынимают корни из второго стакана и также быстро переносят в третий, где оставляют их на 1,5 мин.
2. Окрашенные корни после извлечения из 3-го стаканчика тщательно промыть водой до исчезновения следов синей краски в воде. После этого погрузить корни в стакан с раствором KCl. Через 15 - 30 мин. После погружения корней растений в раствор KCl рассмотреть раствор и корни. Обратит внимание на окраску кончиков корней. Какие изменения произошли с раствором, результатом какого процесса эти изменения являются?

3. Определяют колориметрически концентрацию метиленовой сини (МС) во всех стаканах на ФЭК при красном светофильтре (670 нм), рабочая длина кюветы 10 мм. Для этого исходный и все опытные растворы предварительно разбавить в 10 раз.

Готовить разбавленные растворы необходимо в чистых и сухих пронумерованных колбах: отмерить по 5 мл соответствующего раствора МС и по 45 мл дистиллированной воды мерным цилиндром, тщательно взболтать. Без разведения растворы нельзя колориметрировать, так как их окраска очень интенсивна.

4. Результаты заносят в табл. 14. Зная объем раствора, исходную и конечную концентрации метиленового синего в каждом стакане, рассчитывают количество миллиграммов МС, поглощенное корневой системой из каждого стакана.

Таблица 14

Объ ем кор ней, см ³	Но- мер ста- ка- на	Объ ем рас- тво- ра МС в ста- кане, мл	Исход- ная кон- центра- ция МС, мг/л	Пока- затели ФЭКа	Кон- центра- ция МС в ста- кане после погру- жения, мг/л	Количество МС в стакане, мг		
						д о	по сле	погло- щенной корня- ми
V		K	И		Ф	Н	С	А
	1		64					
	2							
	3							

Расчеты провести следующим образом (обозначения по табл. 14):

1. Первоначальное содержание МС в стакане:

$$H = I * K / 1000, \text{ мг}$$

2. Количество МС в стакане после погружения корней:

$$C_n = \Phi_n * K / 1000, \text{ мг}$$

3. Количество адсорбированной МС:

$$A_n = H - C_n, \text{ мг}$$

Эмпирически авторами метода было установлено, что при поглощении МС в первые три минуты из первого и второго стаканов происходит постепенное адсорбционное насыщение поверхности корней из раствора, концентрация которого должна быть близка к постоянной. Исходя из этого нельзя заменить два последовательных погружения корневой системы в первый и второй стаканы (по 1,5 мин в каждый) погружением в один стакан на три минуты, так как вследствие сильного падения концентрации в нем не будет достигнуто адсорбционное насыщение поверхности корня.

В следующие 1,5 минуты из третьего стакана метиленовая синяя поглощается только рабочей адсорбирующей поверхностью. Следовательно, умножая $1,1 \text{ м}^2$ на количество миллиграммов метиленовой синей, поглощенной из первого и второго стаканов (вместе), получают величину общей адсорбирующей поверхности корня. Величину рабочей адсорбирующей поверхности получают умножением $1,1 \text{ м}^2$ на количество миллиграммов метиленовой синей, поглощенной из третьего стакана. Разница между величиной общей и рабочей адсорбирующей поверхностями дает нам величину недействительной поверхности корневой системы. Расчеты провести следующим образом (обозначения по табл. 14 и 15):

$$S_{\text{общ.}} = 1,1 * (A_1 + A_2), \text{ м}^2$$

$$S_{\text{раб.}} = 1,1 * A_3, \text{ м}^2$$

$$S_{\text{недейт.}} = S_{\text{общ.}} - S_{\text{раб.}}, \text{ м}^2$$

Все результаты расчетов заносят в табл. 15.

Адсорбирующая поверхность (общая рабочая и недействительная) одного кубического сантиметра объема живого корня называется удельной адсорбирующей поверхностью. Ее рассчитывают на основании полученных данных:

$$S_{\text{уд.общ.}} = S_{\text{общ.}} / V, \text{ м}^2/\text{см}^3$$

$$S_{\text{уд.раб.}} = S_{\text{раб.}} / V, \text{ м}^2/\text{см}^3$$

Все результаты расчетов заносят в табл. 15.

Хорошей характеристикой корневых систем также служит величина отношения рабочей адсорбирующей поверхности к общей, которая колеблется обычно от 20 до 50%:

$$A = S_{\text{раб}} / S_{\text{общ.}} * 100 \%$$

Увеличение этого соотношения может быть обусловлено как большей величиной деятельной поверхности корня, так и более быстрым передвижением адсорбированных ионов внутрь корня. Это отношение сильно меняется в зависимости от возраста, условий роста, питания растений и т.д.

5. Сделайте выводы на основании полученных результатов.

Таблица 15

Адсорбирующая поверхность				
Общая, м ²	Рабочая, м ²	Недеятельная, м ²	Удельная поверхность, м ² /см ³	
			Общая	Рабочая
S _{общ.}	S _{раб.}	S _{недеят.}	S _{уд.общ.}	S _{уд.раб.}

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. Что такое адсорбция? 2. Функциональные группы каких соединений обеспечивают адсорбционную способность корня? 3. Каково строение и функции клеточной стенки? Что такое свободное пространство клеточной стенки? 4. Каково значение адсорбции в поглощении минеральных веществ? 5. Что в данном эксперименте является доказательством существования обменной адсорбции? 6. Что такое общая, рабочая и недеятельная адсорбционная поверхность? 7. Какая зона корней соответствует рабочей адсорбирующей поверхности, каково ее строение? Как и почему ее можно увидеть в данном эксперименте? 8. Отличительные характеристики пассивного и активного механизмов поглощения ионов растениями. 9. Как поступают вещества во внутренние структуры корня?

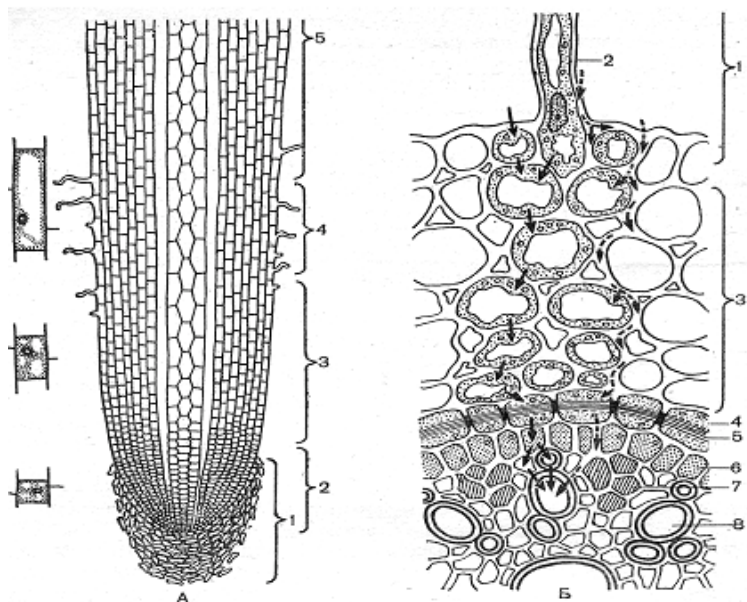


Рис. 24. Строение корня и передвижение поглощенных веществ от поверхности к центральному цилиндру.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ И САМОКОНТРОЛЯ

1. Как вырастить растение без почвы? Какие условия необходимо при этом соблюдать?
2. Почему выражение «корень всасывает почвенный раствор» ошибочно?
3. Корневая система была выдержана в течение нескольких минут в растворе метиленовой сини, а затем тщательно промыта водой, после чего корни были погружены в раствор хлорида кальция. Раствор приобрел хорошо заметную синюю окраску. Как объяснить это явление?
4. Мраморную полированную пластинку закопали в почву вегетационном сосуде и вырастили в этом сосуде проростки фасоли. Через несколько недель на поверхности пластинки образовались отпечатки корней. Как объяснить коррозию мрамора при соприкосновении с корнями?
5. Как объяснить уменьшение интенсивности поглощения корнями минеральных веществ при избыточном увлажнении почвы?
6. В каких частях растения наблюдается более высокое содержание зольных элементов: в древесине или в листьях; в старых или молодых листьях? Как объяснить эти различия?
7. Какие листья обнаруживают более резко выраженные симптомы фосфорного голодания – верхние или нижние? С чем это связано?
8. У каких листьев, молодых или старых, раньше появится хлороз при недостатке в почве растворимых соединений железа?
9. Кусочки черешка и листовой пластинки исследуемого растения поместили на тарелку, размяли стеклянной палочкой и облили бесцветном растворе дифениламина в серной кислоте (реактив на ион NO_3). Черешок дал интенсивное синее окрашивание, а листовая пластинка – слабое. Как объяснить полученные результаты?
10. Почему содержание нитратов в листьях резко снижается при выставлении растения на яркий свет?

11. Как объяснить наличие разнообразных аминокислот почти полное отсутствие ионов NO_3 в пасоке (кселемном соке) многих древесных растений, в том числе произрастающих в почве, богатой нитратами?

12. Недостаток железа в почве вызывает хлороз тканей между жилками молодых листьев, тогда как недостаток азота обуславливает общее пожелтение старых листьев. Почему недостаток азота и железа влияет на ткани разного возраста?

13. В вегетационном опыте изучалось влияние удобрений на урожайность пшеницы. Опыт был поставлен в четырех вариантах: 1) неудобренная почва (контроль); 2) аммиачная селитра; 3) суперфосфат; 4) аммиачная селитра + суперфосфат. Урожай во втором варианте получился в 1,5 раза выше, чем в контроле, в третьем – не отклонялся от контроля, а в четвертом был в 2 раза больше. Сделайте выводы, как объяснить полученные результаты.

14. К соку, отжатому из стебля, черешка и листовой пластинки, добавили раствор дифениламина в концентрированной серной кислоте. Ни один из перечисленных объектов не дал посинения, несмотря на то, что почва, на которой выращивалось растение, была богата нитратами. Сделайте вывод на основе полученных результатов.

15. Почему органические удобрения рекомендуется вносить в больших дозах и задолго до посева?

ВОПРОСЫ К КОЛЛОКВИУМУ

1. История изучения минерального питания. Вегетационные методы.
2. Плодородие почвы и факторы, определяющие его. Почвенно-поглощающий комплекс. Кислотность почвы.
3. Микрофлора почвы. Ризосфера растений.
4. Элементарный состав растений.
5. Физиологическая роль макроэлементов:
 - а) азот
 - б) фосфор
 - в) калий
 - г) кальций
 - д) сера
 - е) магний
 - ж) железо
6. Физиологическая роль микроэлементов.
7. Усвоение молекулярного азота (механизмы, организмы, ферменты).
8. Аммонификация, восстановление окислительных форм азота (механизмы, организмы, ферменты).
9. Роль органических кислот на обмене. Амиды аспарагин глутамин, их роль в обмене азотистых веществ. Цикл Прянишникова.
10. Взаимодействие ионов (антагонизм, синергизм)
11. Корневая система как орган поглощения и усвоения минеральных веществ.
12. Поглощение веществ из почвы. Обменная адсорбция.
13. Пути транспорта веществ по растению.
14. Механизм, признаки мембранного транспорта веществ: а) пассивный; б) активный.
15. Внутриклеточный транспорт веществ.
16. Межклеточный транспорт веществ.
17. Дальний транспорт веществ: а) кселемный; б) флоэмный:
18. Система удобрений. Законы Либиха. Физиологические основы применения удобрений.

Раздел 5. РОСТ И РАЗВИТИЕ

Онтогенез (жизненный цикл), или индивидуальное развитие, — комплекс последовательных и необратимых изменений жизнедеятельности и структуры растений от возникновения из оплодотворенной яйцеклетки, зачаточной или вегетативной почки до естественной смерти. Онтогенез является последовательной реализацией наследственной генетической программы развития организма в конкретных условиях внешней среды.

Для характеристики онтогенеза растений используют термины «рост» и «развитие».

Рост — процесс новообразования элементов структуры, сопровождающийся увеличением количественных и качественных показателей и обусловленный доминированием процессов синтеза над распадом.

Рост растений нельзя рассматривать как чисто количественный процесс. Появляющиеся побеги и листья качественно отличаются друг от друга. Растения, в отличие от животных организмов, растут в течение всей жизни, но обычно с некоторыми перерывами (период покоя). Показатели темпов роста - это скорость нарастания массы, объема и размеров растения.

Росту растений присущи определенные закономерности — ростовые явления. К ним относятся периодичность и ритмичность роста, ростовые корреляции, закон большого периода роста, регенерация и полярность.

Развитие — качественные изменения структуры и функций растения в целом и его отдельных частей — органов, тканей и клеток, возникающие в процессе онтогенеза. Возникновение качественных различий между клетками, тканями и органами получило название *дифференцировки*.

Формообразование (или *морфогенез*) у растений включает в себя процессы заложения, роста и развития клеток (*цитогенез*), тканей (*гистогенез*) и органов (*органогенез*).

Процессы роста и развития тесно взаимосвязаны.

Работа 12. Наблюдение периодичности роста древесных растений

Материалы и оборудование:

Б. Линейка (2 шт.).

Рост так или иначе определяется такими правильно повторяющимися периодами, как смена условий существования по сезонам года и в течение суток. Наиболее общей ясно выраженной закономерностью роста, присущей всем живым организмам, является его ритмичность, обусловленная внутренними причинами и влиянием внешних условий: вначале наблюдается медленный рост, затем скорость роста увеличивается, достигает максимума, снова замедляется и, наконец, рост прекращается. Однолетние растения погибают, а приостановка роста у многолетних растений средней полосы совпадает с подготовкой к осенне-зимнему покою, во время которого происходят значительные биохимические и структурные изменения в тканях роста, обеспечивающие дальнейший интенсивный рост.

Периодичность, чередование замедленного и интенсивного роста, характеризуется законом большого периода роста, который охватывает годичный цикл жизни растения. Но и каждый его орган проходит такой же цикл развития, продолжительность которого может не совпадать со временем развития всего организма. Большой период роста необходимо отличать от малого периода, обусловленного сменой дня и ночи.

Рост органа или растения как функция времени графически выражается в виде плавной S-образной кривой, а скорость роста или прироста в виде плавной кривой, как правило, с одним максимумом. Продолжительность отдельных фаз, крутизна падения и подъема кривой роста зависит от видовых особенностей растений и условий внешней среды. Общий характер кривых роста был установлен в конце прошлого века немецким ученым Ю.Саксом, что фактически явилось одним из наиболее крупных обобщений, имеющих общеприкладное значение.

Метод изучения периодичности роста заключается в том, что измеряется длина междоузлий, образующихся по мере нарастания побега (прирост побега). В большинстве случаев она увеличивается от основания к середине побега, где достигает максимума, а к верхушке побега вновь уменьшается.

Цель работы: Познакомиться с законом большого периода роста на примере динамики роста древесного побега.

Объект: Однолетние побеги древесных пород с небольшим участком двулетнего побега: тополя, черемухи, вишни, акации, яблони, ивы, барбариса, вяза, малины, жимолости, сирени, спиреи, боярышника, розы и др.

Ход работы:

1. Измерить линейкой длину междоузлий однолетнего побега какого-либо древесного растения от его основания до верхушечной почки. При измерении очень важно не упустить из внимания сближенные узлы с неразвившимися спящими почками у основания, а также все почки на верхушке побега. Результаты измерений записать в табл. 16.
2. На основании полученных данных построить графики прироста (длина междоузлий) и роста побега (рис. 25). По оси ординат – длину междоузлий и длину побега, по оси абсцисс – номера междоузлий, считая от основания побега.
3. Сделать выводы о периодичности роста и отметить на кривой основные его фазы.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ: 1. Что называется ростом? Какие существуют типы роста? 2. Каковы основные закономерности роста и возможность их использования в растениеводстве? 3. Что такое большой период роста? 4. Какой вид имеет кривая роста? 5. Охарактеризуйте фазы роста.

Таблица 16

Длина, см	Номер междоузлия от основания побега										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	И т.д.
Длина меж- доузлия											
Длина по- бега											



Рис. 25. Кривая роста и кривая прироста.

Работа 13. Изучение некоторых фитометрических параметров растений

Материалы и оборудование: Б. Линейки (2 шт.), миллиметровая бумага, цветные карандаши, весы.

К фитометрическим параметрам, которые измеряются при исследовании закономерностей роста и развития растений в ходе онтогенеза, относится высота, биомасса растений, количество и площадь листьев, длина междоузлий побега и стебля, длина побега, растительность листовых пластинок и др.

Изучение скорости роста растений, проведённое немецким ученым Ю. Саксом, позволила установить определенные закономерности (см. работу 12). Характер измерений любого морфологического параметра может служить надежной характеристикой темпов роста, что в свою очередь является следствием обеспеченности растений органикой, элементами минерального питания и водой и т. д.

В формирование элементов продуктивности у растений наибольший вклад вносит лист (который на момент определения имеет наибольшую величину и высокую физиологическую активность). Поэтому характер изменения морфологических параметров листьев в зависимости от места положения может характеризовать скорость роста и развития растений.

Задача 1. Ярусная изменчивость морфологических параметров.

Морфологические признаки метамерных органов (листьев, междоузлия стебля) закономерно изменяются в зависимости от яруса побега. От нижних к верхним ярусам размеры листьев сначала увеличиваются, а затем, достигнув определенного максимума, начинают уменьшаться. У некоторых видов растений закономерно изменяется и рассеченность листовых пластинок (хлопчатник, томаты и др.) При графическом изображении ярусной изменчивости получается одновершинная кривая, пере-

гиб кривой показывает, свет какого яруса работает на формирование репродуктивных органов в момент определения.

Цель работы: Изучить закономерности изменения в ходе онтогенеза морфологических признаков.

Объект: Любое растение с листьями: пшеница, ячмень, кукуруза в фазе колошения или цветения; томат, перец, фасоль или комнатное растение и др.

Ход работы:

1. У растений, сформировавших листья всех ярусов, определить длину и площадь листьев в качестве показателя метаморфической изменчивости. Для этого у каждого листа линейкой измерить длину и ширину пластинки, начиная от основания побега (измерение ширины проводить в самой широкой части листовой пластинки). Затем рассчитать площадь листьев (см. задачу 2). Результаты измерений записать по форме (табл. 17).

Таблица 17

Ширина, см						Длина, см						Площадь, см ²					
Ярус листа (от основания)																	
1	2	3	4	5	и т.д.	1	2	3	4	5	и т.д.	1	2	3	4	5	и т. д.

2. В тетради построить кривые измерения морфологических параметров листа (длины, ширины и площади) в зависимости от яруса побега. По оси абсцисс откладывают номер яруса, считая снизу, а по оси ординат – параметры листьев (рис. 26)

Обсудить данные полученные разными парами студентов. Сделать выводы по скорости роста и развития разных растений.

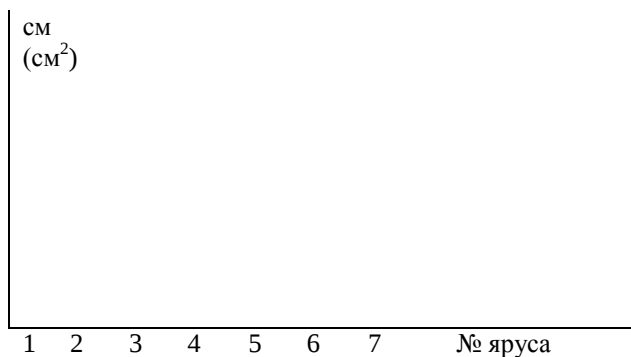


Рис. 26. Изменение морфологических параметров листа.

Задача 2. Определение площади листа по его параметрам.

Для определения площади листовой поверхности разработано множество методов и приемов: метод отпечатков, весовой метод (см. работу 12), метод высечек, определение площади листа по его параметрам, автоматическое планиметрирование.

Метод определения площади листьев по параметрам основан на сопоставлении фигуры листа с простой геометрической фигурой, достаточно хорошо совпадающей с конфигурацией данного листа. Его можно использовать только при работе с растениями, имеющими сравнительно простую и устойчиво сохраняющуюся форму. Метод характеризуется простой, относительно высокой производительностью, возможностью определения листовой поверхности без отделения листьев от растения. Однако одновременно ему присущи невысокая точность.

Ход работы: Лист вписать в соответствующую фигуру так, чтобы основные параметры были общими. Например, листья злаков легко вписываются в вытянутый прямоугольник. Измерить ширину (a) и длину (b) такого прямоугольника, найти его площадь (S), которая равна $S = ab$. Однако фактическая площадь листа ($S_{л}$) будет меньше площади геометрической фигуры (S).

Поэтому необходимо установить поправочный коэффициент K , равный отношению $S_{л}/S$.

Поправочный коэффициент (K) можно определить весовым методом. Взвесить на весах с точностью до 0,01г построенную по длине ширине листа растения соответствующую фигуру ($M_{ф}$) и вырезанный из той же бумаги контур листа ($M_{л}$).

$$K = M_{л}/M_{ф}.$$

Отсюда фактическая площадь листа злаков будет равна:

$$S_{л} = abK.$$

Так, например, поправочный коэффициент K для кукурузы – 0,68; ячменя, овса, пшеницы – 0,65; сахарная свекла – 0,76; огурца – 0,56; для разных сортов яблони он колеблется от 0,62 до 0,74.

Аналогично предварительно вычисляют поправочные коэффициенты для листьев других растений, моделируя их с соответствующими простыми геометрическими фигурами. Причём коэффициент K получают на основании анализа многих листьев и несколько раз в течение вегетационного периода, так как нередко конфигурация листьев претерпевает значительные возрастные изменения. Кроме того, необходимо систематически проверять применимость ранее рассчитанных поправочных коэффициентов.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ И САМОКОНТРОЛЯ

1. Можно ли отнести к ростовым явлениям: а) набухание семян в воде; б) набухание почек перед их распусканием? Объясните.
2. Как объяснить накопление значительных количеств аспаргина в проростках бобовых растений, выращенных в темноте?
3. Каковы могут быть причины отсутствия прорастания жизнеспособных семян при наличии всех благоприятных для этого процесса внешних условий?
4. Как определить, находятся ли почки древесного растения в состоянии глубокого покоя, или покой их является вынужденным?
5. Какой фактор внешней среды служит сигналом к осеннему листопаду древесных растений умеренной зоны?
6. Как объяснить появление проросли на пнях таких древесных растений, как дуб, липа, береза?
7. Иногда на яблоках наряду с плодами правильной формы развиваются несимметричные яблоки. Как объяснить это явление?
8. У двух растений подсолнечника срезали верхушки стеблей, после чего на поверхность среза одного из этих растений нанесли пасту с индолилуксусной кислотой. Каковы будут результаты описанного опыта?
9. Как объяснить развитие двuverшинности у сосны?
10. Известно, что в каком бы положении ни упало семя в почву, развивающийся из него проросток направляет свой корень вниз, а стебель вверх. Как объяснить это явление?
11. Когда наблюдается более быстрый рост растений – днем или ночью? Действием каких факторов объясняется это различие?
12. Почему удаление корней проростков приводит обычно к остановке роста стеблей и разрушению ядер точек роста?
13. Почему озимые сорта злаков не цветут, если их посеять весной?
14. Длиннодневные двудольное растение выращивалось на коротком (10-часовом) дне, а короткодневное растение – на длин-

ном (18-часовом) дне. Как будут расти растения, зацветут ли они?

15. Почему хризантемы зацветают только осенью? Можно ли добиться цветения этих растений летом?

16. С 20-летнего тополя срезаны два черенка: из средней части кроны и из побега, выросшего у основания ствола. Оба черенка высажены в грунт и регулярно поливаются. Какой из указанных черенков будет лучше укореняться? Какое из полученных растений будет быстрее расти? Какое растение раньше зацветет? Объясните.

19. Сеянцы сосны выращивали в трех вегетационных сосудов с почвой, влажность которого составляла: 1) 30%; 2) 60%; 3) 90% от полной влагоемкости. Через 3 месяца измерили длину главного побега сеянцев, которая оказалась в соответствующих сосудах равной: 1) 3,9 см; 2) 11,5 см; 3) 6,4 см. Как объяснить полученные результаты?

20. Объясните механизм реагирования растения на силу тяжести (геотропизм)?

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Киреева, Т.Б. Осмотические свойства растительной клетки: Учеб. пособие / Т. Б. Киреева. – Ижевск, УдГУ, 2008. – 67 с.
2. Киреева, Т.Б. Практикум по физиологии растений: Метод. пособие для студентов-биологов 3 курса биол. - хим. фак. / Т. Б. Киреева. – Ижевск : Изд-во УдГУ, 1994. – 186 с.
3. Киреева, Т.Б. Учебно-методическое пособие по изучению роста и развития растений. / Т.Б. Киреева. – Ижевск: Изд-во Удм. ун-та, 2004. – 50 с.
4. Кретович, В.Л. Основы биохимии растений : Учеб. для ун-тов и технологич. вузов пищ. пром. / В.Л. Кретович. – 5-е изд., доп. - М. : Высшая школа, 1971. – 464 с.
5. Кузнецов, В.В. Физиология растений: Учебник. / Вл.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М.: Высш. шк., 2006. – 742 с.
6. Найдун, С.Н. Минеральное питание растений. Методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов / С.Н. Найдун, В.М. Юрин. – Мн.: БГУ, 2004.– 47 с.
7. Полевой, В.В. Физиология растений : Учеб.для вузов / В.В. Полевой. - М.: Высш. шк., 1989. – 464 с.
8. Физиология растений : учеб. для вузов рек. МО РФ / Н. Д. Алехина и др.; Под ред. И. П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 634 с.
9. Хелдт, Г.-В. Биохимия растений / Г.-В. Хелдт ; пер. с англ. : М. А. Брейгиной, М. В. Титовой, В. Ю. Штратниковой; пер. под ред.: А. М. Носова, В. В. Чуба. - М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2011.
10. Якушкина, Н. И. Физиология растений : учеб. пособие для вузов по спец. 032400 "Биология" рек. УМО / Н. И. Якушкина, Е. Ю. Бахтенко. – М. : Владос, 2005. – 463 с.

Приложение 1

Методика подготовки материалов для проведения лабораторных работ

1. **Приготовление молярных растворов.** Определить молекулярную массу по сумме относительных атомных масс элементов, из которых состоит данное соединение. Для получения 1М раствора взвесить навеску вещества (г), соответствующую его молекулярной массе и растворить в 1 литре дистиллированной воды.

2. **Раствор нейтрального красного.**

- a. **Основной раствор** (1:1000) готовится путем растворения 0,1г красителя в 100 мл дистиллированной воды. Раствор профильтровать и хранить в склянке из темного стекла.
- b. **Рабочий раствор** (1:10 000) готовится непосредственно перед использованием путем разбавления в 10 раз водопроводной водой основного раствора. Нельзя использовать старые растворы, особенно если они долго находились на дневном свету.

3. **Техника приготовления срезов луковицы.** Взять для опыта луковицу, находящуюся в состоянии полного покоя (никогда не следует применять прорастающие луковицы). Разрезать острым ножом очищенную луковицу на 4 - 6 равных частей, в этом случае отдельные чешуи сектора без затруднения отделяются друг от друга. Эти сектора сохраняются для опытов во влажном пространстве под каким-либо стеклянным колпаком. Чтобы обеспечить безупречную сравнимость опытов следует делать срезы эпидермиса с одной и той же чешуи, так как всегда следует помнить, что отдельные чешуи луковиц физиологически неравноценны (например, внутренние – более молодые с более кислым клеточным соком). Физиологическое развитие обнаруживается также между базальной и апикальной частями каждой чешуи, поэтому срезы всегда должны происходить из одной и той же ее зоны. Отделить одну чешую и в ее средней части при помощи очень острого лезвия бритвы (чтобы уменьшить раневое раздражение) без надавливания, то есть скольз-

щим движение сделать срезы толщиной в 2 - 3 слоя неповрежденных клеток. При приготовлении очень тонких срезов может наступить общее отмирание клеток, но в то же время очень толстые не дают четкой картины. Размер срезов не должен превышать 5x5 мм.

4. **Прижизненное (витальное) окрашивание срезов лука.** Срезы нижнего (наружного) эпидермиса лука сразу после приготовления поместить в бюкс с раствором нейтрального красного (1 : 10000), приготовленного непосредственно перед работой. Необходимо проследить, чтобы срезы не плавали на поверхности, а были полностью погружены в раствор. Для этого следует «утопить» с помощью препаровальной иглы. Продолжительность окрашивания – 10 - 15 мин.

Извлечь из красителя один из срезов, перенести его на 1 сек. в каплю воды на часовом стекле для отмывки от лишнего красителя. Не следует очень долго держать срезы в воде, так как клетка при этом обесцвечивается вследствие пассивного выхода красителя из клетки.

Поместить срез на предметное стекло в каплю воды, закрыть покровным стеклом, рассмотреть препарат под микроскопом при малом увеличении. Используется метод светлого поля в проходящем свете. В живых клетках вакуоли окрашены в малиновый цвет. Поврежденные клетки легко распознаются по потере ими красного клеточного сока, или же вакуоли поврежденных клеток не окрашены, но окрашиваются в желтовато-красный цвет их цитоплазма и ядро.

5. **Жидкий синий светофильтр.** Водный раствор медного купороса, насыщенный аммиаком. Приготовить 4% водный раствор медного купороса ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Затем насыщать его аммиаком NH_4OH до тех пор, пока образовавшийся вначале осадок $\text{Cu}(\text{OH})_2$ полностью не растворится, а окраска раствора при этом не сменится с голубой на сине-фиолетовую.

6. **Раствор метилового красного 0,04%.** Растворить 40 мг метилового красного в 100 мл 60% этанола и профильтровать. Хранить в плотно закрытой склянке из темного стекла.

7. **Раствор Люголя.** Для приготовления раствор йода в йодиде калия 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.

8. **Проращивание семян.** Для проращивания брать полновесные, не зараженные фитопатогенами и плесневыми грибами семена ячменя или пшеницы. Против плесневых грибов семена можно обработать 30% перекисью водорода.

а. Семена насыпать в кристаллизатор (на дно которого положить фильтровальную бумагу), залить водой на 4 - 5 см выше поверхности семян и поставить в термостат при 15 - 25 °С для набухания на сутки. Затем воду слить, сверху семена закрыть влажной фильтровальной бумагой и оставить при той же температуре для прорастания на двое суток.

б. Наклюнувшиеся семена посадить в растильни с кварцевым песком на глубину не более 1 см за 3 - 5 дней до занятия. Поливать растильни дистиллированной водой.

9. **Приготовления солода.** Прорастить семена пшеницы, ячменя или ржи (см. п. 8а). При длине проростков не более длины зерновки их высушить до воздушно-сухого состояния и размолоть. Хранить солод в стеклянной посуде в темном месте.

10. **Для приготовления вытяжки амилазы.** Взять 50 шт. (10 - 15 г) 4 - 5 дневных проросших (ростки длиной 1 - 2 см) семян (см. п. 8а), поместить их в фарфоровую ступку. Тщательно растереть материал с 10 мл теплой воды до получения однородной мелкодисперсной кашицы. Добавить в ступку еще 40 мл воды, содержимое перемешать и настаивать около 1 часа в холодильнике, перемешивая содержимое через каждые 15 мин. Затем вынуть из холодильника и профильтровать через складчатый фильтр на большой воронке. Полученный фильтрат является раствором амилаз, присутствующих в зерне. Вытяжкой пользоваться сразу.

11. **Солодовая вытяжка амилазы.** 25 г солода (см. п. 9) растереть в ступке, добавить несколько капель глицерина для

ускорения извлечения фермента и 100 мл теплой воды (35 °С). Хорошо размешать и дать настояться в течение 30 - 60 мин на водяной бане, строго следя за температурой! Затем профильтровать через складчатый фильтр в колбочку. Первые порции мутного фильтрата слить обратно на фильтр. Фильтрат содержит активную амилазу.

12. Крахмальная агаровая пластинка. 2 г мелко нарезанного агар-агара оставить набухать на некоторое время, прилив 100 мл воды. Затем поставить смесь на водяную баню и нагреть до полного растворения агара.

2 г картофельного крахмала растворить небольшом количестве холодной воды (около 20 мл) и вылить в кипящий раствор агара на водяной бане, вновь довести до кипения. Нагревать смесь при помешивании около 10 мин. и затем в горячем виде разлить тонким слоем (толщиной 0,25 - 0,5 см) в стерильные чашки Петри.

При необходимости хранения чашек с пластикой в течение 2 - 3 дней после застывания крахмальной агаровой пластинки чашку Петри в перевернутом состоянии поместить в холодильник.

13. Крахмальный клейстер 1%. 1 грамм растворимого крахмала высыпать в стакан, 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.

14. 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 воды добавить, 150 г КОН или NaOH и довести дистиллированной водой до 1 л.

15. Раствор краски Судан-III. Растворить в фарфоровой чашке 0,2 г краски Судан-III и 20 мл 96% этилового спирта, до-

бавить 20 мл глицерина, тщательно размешать и профильтровать.

16. **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 муфельной печи до розового цвета (2 - 3 часа).

17. **Хромовая смесь (хромпик).** 63 г бихромата калия (IV) растворить в 35 мл воды и осторожно долить концентрированной H_2SO_4 на 1 л.

Способ употребления: Налить хромовую смесь в посуду на $\frac{1}{4}$, осторожно смочить стенки и слить обратно в склянку. Дать постоять несколько минут (очень грязной посуде - несколько часов) и промыть водой. Пипетки поставить на высокий цилиндр, заполненной хромовой смесью. Не следует мыть хромовой смесью посуду, загрязненную парафином, минеральными маслами и другими продуктами перегонки нефти. 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.

Обработка предметных и покровных стекол: Стекла промыть в мыльном растворе, а затем 20 - 30 мин. кипятить, применяя стиральный порошок. При более длительном кипячении мыло пристает к стеклу, образуя накипь, которую трудно удалить. Прокипяченное стекло взять из раствора прицетом и промыть в проточной воде в течении 10 - 15 мин. Из проточной воды стекла также пинцетом перенести раствора хромовой смеси и выдержит в нем не менее суток (3 - 5 суток). После этого их промыть проточной водой и перевести в дистиллированную воду. Стекла считаются чистыми и обезжиренными, если вода скользит со стекла не задерживаясь. Покровные стекла мыть в смеси спирта и петролейного эфира, вытирая тонкой белой тряпочкой. Хранить стекла в сухом месте.

Приложение 2

Список необходимых для занятий реактивов и материалов

<i>Название</i>	<i>Номер работы</i>	<i>Название</i>	<i>Номер работы</i>
Агар-агар	8	Меди ацетат $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	5
Аммиак	5, 6, 7	Меди сульфат (медный купорос) $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	5, 6, 7, 8
Аскорбиновая кислота	6	Метиловый красный	6
Ацетон	5	Метиленовый синий	11
Бензин	5	Мочевина	4
Глицерин $\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$	4	Натрия гидрооксид NaOH	5
Зерна ячменя, пшеницы, ржи, подсолнечника	8, 9, 10, 11	Натрия гидрокарбонат NaHCO_3	7
Йод металлический	6, 8, 9	Натрия хлорид NaCl	3, 10
Калия гидрооксид KOH	5	Нейтральный красный	1, 2, 3
Калия иодид KI	6, 8, 9	Петролейный эфир	5
Калий, натрий виннокислый $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	9	Сахароза	1, 2, 3
Калия нитрат KNO_3	2	Солод	8
Калия хлорид KCl	10, 11	Соляная кислота HCl уд. вес 1,85	5
Калия хромат $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	6, 7, 11	Спирт для спиртовок	5
Кальция карбонат CaCO_3	5	Судан III	9
Кальция нитрат $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	2	Толуол	5
Кальция хлорид CaCl	10	Фильтровальная бумага	1, 2, 3, 4, 11
Крахмал	8	Хроматографическая бумага	5
Магния карбонат	5	Этиловый спирт $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	5, 11

MgCO ₃			
-------------------	--	--	--

Учебное издание

Составитель
Зыкина Наталья Григорьевна

Физиология растений: лабораторный практикум с заданиями для контроля и самоконтроля студентов

Учебно-методическое пособие

Подписано в печать . Формат 60 x 84 ¹/₁₆.

Печать офсетная. Усл. печ. л. . Уч-изд. л. .

Тираж экз. Заказ № .

Издательство «Удмуртский университет»
426034, г. Ижевск, ул. Университетская, 1, корп. 4.