

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Якутская государственная сельскохозяйственная академия»
Агротехнологический факультет
Кафедра агробиохимии

Методические указания
к лабораторным занятиям по дисциплине «Физиология растений»
для студентов агротехнологического факультета

Якутск 2010

УДК 581.1(075)
ББК 28.5я2

Методические указания к лабораторным занятиям по дисциплине «Физиология растений» для студентов агротехнологического факультета.-Якутск: ФГОУ ВПО «Якутская ГСХА», 2010.-29 с.

Составители: доцент кафедры агробиохимии, к.б.н. Сивцева С.С., ассистент кафедры агробиохимии Андреева М.И.

Утверждена на заседании кафедры агробиохимии ФГОУ ВПО «Якутская ГСХА»: № 10 от 04.05.10г.

Рекомендовано к печати на заседании методического совета агротехнологического факультета ФГОУ ВПО «Якутская ГСХА»: № 10 от 05.05.10г.

Методические указания содержат основные рекомендации для выполнения лабораторных работ по дисциплине «Физиология растений», предусмотренных программой для подготовки специалистов по направлению 110305.65 «Технология производства и переработки с/х продукции», 110201.65 «Агрономия».

© Федеральное государственное
образовательное учреждение
высшего профессионального
образования
«Якутская государственная
сельскохозяйственная академия»,
2010.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Требования к выполнению лабораторных работ.....	5
Работа 1. Сравнение проницаемости мембран живых и мертвых клеток.....	7
Работа 2. Определение жизнеспособности семян по окрашиванию цитоплазмы.....	8
Работа 3. Определение водного потенциала растительной ткани методом полосок по Лилиенштерн.....	9
Работа 4. Получение вытяжки пигментов зеленого листа.....	11
Работа 5. Разделение пигментов по Краусу.....	13
Работа 6. Омыление хлорофилла щелочью.....	13
Работа 7. Получение феофитина и восстановление металлорганической связи.....	14
Работа 8. Обнаружение дегидрогеназ в растительном материале.....	14
Работа 9. Определение пероксидазы.....	16
Работа 10. Определение активности каталазы.....	17
Работа 11. Определение состояния устьиц методом инфильтрации по Молишу.....	18
Работа 12. Рост корней пшеницы в растворе чистой соли и смеси солей.....	19
Работа 13. Наблюдение периодичности роста побега.....	20
Работа 14. Защитное действие сахарозы на белки при отрицательных температурах.....	21
Работа 15. Диагностика заболевания растения при голодании по элементам минерального питания.....	22
Перечень вопросов для итогового самоконтроля знаний.....	24
Рекомендуемая литература.....	27
Список использованной литературы.....	28

ВВЕДЕНИЕ

Физиология растений – это наука о структурной организации и функционировании растительного организма. Она рассматривает физико-химические, экологические и эволюционные аспекты физиологии растений. Главная ее задача – изучение основных закономерностей жизнедеятельности растений, раскрытие молекулярных основ их функционирования и механизмов регуляции в системе целого организма.

Основная задача практических работ по физиологии растений – дать студентам современное представление о природе основных физиологических процессов растений, механизмах их регуляции и закономерностях взаимодействия с внешней средой на основе практических работ, проводимых в лабораторных условиях. Кроме того, студенты знакомятся с современными методами изучения основных функций растительного организма (фотосинтеза, дыхания, минерального питания, водного обмена, роста и развития растительных клеток и тканей). Предметное содержание задач направлено на углубление знаний, получаемых студентами при изучении теоретического курса.

В методические указания включены лабораторные работы, наглядно отражающие основные молекулярные, физиологические основы функционирования растительных организмов, влияние на процессы жизнедеятельности факторов внешней среды, определение общих черт живых организмов и происходящих в них процессов.

Выполнение лабораторных работ должно содействовать более глубокому и полному усвоению теоретического материала. В процессе практического ознакомления со структурной организацией и функционированием растений у студентов должны сформироваться умения грамотно решать практические вопросы с точки зрения физиологии, как основы растениеводства.

В структуру методических указаний включены введение, требования к выполнению лабораторно-практических работ, описание лабораторных работ с подробно приведенной методикой их выполнения, список использованной литературы и приложения.

ТРЕБОВАНИЯ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

Перед началом работ студенты должны ознакомиться с настоящими требованиями, выслушать инструктаж по технике безопасности и расписаться в журнале по инструктажу.

1. В каждой лаборатории должны быть средства пожаротушения и индивидуальной защиты (огнетушители, емкости с песком, резиновые перчатки, респираторы, защитные очки, аптечки с набором медикаментов).
2. Не допускается работать в лабораториях без специальных халатов, студенты, пришедшие на занятия без халатов, не допускаются к лабораторным работам.
3. Запрещается курить, принимать пищу, употреблять напитки в лабораториях и нагромождать рабочее место посторонними вещами (большими сумками, пакетами, верхней одеждой).
4. Прежде чем приступить к работе, необходимо тщательно ознакомиться с ее описанием и методикой проведения. Работать тщательно, аккуратно, не спеша.
5. Перед работой с приборами и установками необходимо ознакомиться с принципами их действия и основными правилами эксплуатации.
6. Пользоваться только маркированными реактивами и не предпринимать никаких дополнительных действий, не указанных в ходе проведения работ.
7. Работать с вредными, концентрированными и летучими реактивами только под тягой. Необходимо закрывать крышечкой емкости, ни в коем случае не оставлять их открытыми.

8. Работать с химической посудой следует осторожно, не пользоваться испорченной посудой (со сколами, трещинами), не использовать в опытах грязную посуду, после использования ее необходимо вымыть.
9. Горячие посуду и приборы ставить только на специальные подставки во избежание порчи покрытий столешниц.
10. По окончании работы следует привести в порядок рабочее место, выключить все использованные электроприборы и сдать лаборанту.
11. Оформление и сдачу отчетности по лабораторным работам следует производить согласно приведенному плану. Отчетность, оформленная не по правилам, к сдаче не принимается.

План оформления лабораторных работ:

1. Название работы.
2. Конспект теоретической части лабораторной работы.
3. Цель проведения работы.
4. Исследуемый материал.
5. Реактивы и оборудование.
6. Ход работы.
7. Описание полученных результатов по работе.
8. Выводы по проведенной лабораторной работе.

Работа 1. Сравнение проницаемости мембран живых и мертвых клеток

Наружная цитоплазматическая мембрана клетки (плазмалемма) отделяет клетку от окружающей среды, контролирует транспорт веществ в клетку и из клетки, первая воспринимает информацию о внешней среде. Внутриклеточные мембраны обеспечивают пространственную упорядоченность многочисленных процессов, протекающих в клетке. Они создают изолированные пространства (компарменты), в которых одновременно могут протекать противоположно направленные процессы. В мембраны встроено большое количество мультиферментных комплексов, транспортных систем, рецепторных молекул, обеспечивающих протекание основных жизненных процессов.

Важнейшее свойство клеточных мембран - избирательная проницаемость, благодаря которой через них проходят молекулы только некоторых веществ. Это свойство может изменяться в зависимости от процессов, протекающих в клетке. Избирательная проницаемость мембраны сохраняется до тех пор, пока клетка остается живой. После ее гибели мембраны становятся полностью проницаемыми.

В вакуолях клеток корнеплода столовой свеклы содержится бетацианин-пигмент, придающий ткани корнеплода окраску. Тонoplastы живых клеток непроницаемы для молекул этого пигмента. После гибели клеток тонoplast теряет свойство полупроницаемости, становится проницаемым, молекулы пигмента выходят из клеток и окрашивают воду.

Исследуемый материал: корнеплод столовой свеклы

Реактивы и оборудование: 30 %-ый раствор уксусной кислоты, H_2O дистиллированная, скальпель или лезвие безопасной бритвы, пробирки, штатив для пробирок, держатель для пробирок, спиртовка, пипетки на 5 мл.

Ход работы. Корнеплод свеклы после удаления покровных тканей нарезают на кубик (сторона кубика 5 мм и тщательно промывают водой,

чтобы удалить пигмент, вышедший из поврежденных клеток. Затем по одному кусочку опускают в три пробирки. В первую и вторую наливают по 5 мл воды, в третью - 5 мл 30 %-ного раствора уксусной кислоты. Первую пробирку оставляют для контроля. Содержимое второй кипятят 2 - 3 мин. Наблюдайте изменение окраски растворов.

Работа 2. Определение жизнеспособности семян по окрашиванию цитоплазмы

При повреждении в клетке независимо от природы агента возникает комплекс неспецифических ответных реакций: уменьшение степени дисперсности цитоплазмы (оструктурирование, помутнение), повышение вязкости, увеличение проницаемости (выход вещества из клетки), повышение сродства к красителям у цитоплазмы и ядра, падение мембранного потенциала. На этом основаны методы определения жизнеспособности семян по окрашиванию их зародышей витальными красителями. Жизнеспособными считают те семена, зародыши которых не окрашиваются.

Исследуемый материал: семена гороха и пшеницы.

Реактивы и оборудование: 0,2% раствор фуксина или индигокармина, бюксы, пипетки, фильтровальная бумага, лезвие, препаровальные иглы.

Ход работы. 1. *Метод Нелюбова.* Этим методом устанавливают жизнеспособность семян гороха, люпина, конопли, тыквенных культур.

Берут 10-15 семян, которые предварительно намачивают в течении 18 ч при 20°C, освобождают их от семенной оболочки, помещают в 0,2% раствор индигокармина или кислого фуксина на 2-3 ч при 30°C. Затем краску сливают, промывают семена водой и устанавливают их жизнеспособность.

Семена с неокрашенными корешками и слабоокрашенными семядолями относят к жизнеспособным, а с полностью окрашенными корешками и семядолями - к нежизнеспособным.

2. *Метод Иванова.* Для определения берут 10 зерновок пшеницы, которые предварительно намачивают в воде в течении 10 ч при комнатной температуре, разрезают бритвой вдоль бороздки пополам так, чтобы был виден зародыш, и помещают на 8-10 мин в 0,1% раствор кислого фуксина или индигокармина. Краску сливают, семена промывают водой, размещают пинцетом на фильтровальной бумаге и определяют жизнеспособность. У жизнеспособных семян зародыши не окрашены, у мертвых или сильно поврежденных окрашены более или менее интенсивно.

Обратите внимание на строение зерновки (определите строение эндосперма и расположение зародыша), зарисуйте. По результатам работы сделайте выводы о качестве посевного материала.

Работа 3. Определение водного потенциала растительной ткани методом полосок по Лилиенштерн

Водный потенциал (Ψ_w) характеризует сосущую силу растительной ткани. Его величина зависит от разности химических потенциалов воды в клетке и чистой воды. Водный потенциал всегда имеет отрицательный знак. Чем ниже водный потенциал, тем сильнее обезвожена растительная клетка, поэтому этот показатель используют для выбора правильного полива.

Для конкретных культур различных почвенно-климатических зон установлены оптимальные значения водного потенциала. Это позволяет по справочным данным проводить поливы в оптимальные сроки.

Метод полосок основан на подборе наружного раствора такой концентрации, при погружении в который длина полоски растительной ткани не меняется. Если водный потенциал наружного раствора выше водного потенциала растительной ткани, то клетки, всасывая воду из раствора, увеличиваются в объеме, и длина полосок возрастает, если же он ниже, то раствор отнимает воду от клеток, в результате чего их объем и длина полоски уменьшается. В растворе, у которого водный потенциал равен водному потенциалу растительной ткани, длина полосок не изменяется.

Исследуемый материал: клубни картофеля.

Реактивы и оборудование: 1М раствор сахарозы или KNO_3 , штативы с семью пробирками, градуированные пипетки на 10 мл, пинцеты, ланцеты, ножи, часы, миллиметровые линейки.

Ход работы. При помощи разбавления 1М раствора сахарозы (или KNO_3) в пробирках готовят по 10 мл растворов 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 М концентрации. Из клубня картофеля вырезают 14 полосок длиной 4-6 см и сечением около 4 мм². Концы полосок срезают наискось. Работать следует быстро, чтобы исключить подсыхание полосок. Миллиметровой линейкой точно измеряют их длину и помещают по две в каждую пробирку с приготовленным раствором. Через 20 мин полоски вынимают, обсушивают фильтровальной бумагой и снова измеряют их длину.

Для расчета величины водного потенциала берут концентрацию, при которой длина полосок не изменяется. Величину водного потенциала рассчитывают по формуле:

$$\Psi_{\text{ткани}} = \Psi_{\text{р-ра}} = -RTci$$

где R – газовая постоянная, равная 8,3; T – абсолютная температура; c – концентрация раствора, в котором длина полосок не изменялась; i – изотонический коэффициент [$i = 1 + \alpha(n - 1)$].

Так как неэлектролиты не диссоциируют, для сахарозы $i=1$.

Значения α для растворов KNO_3 приведено в таблице 1.

Таблица 1. Значения α для растворов KNO_3 .

Концентрация (М)	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Степень диссоциации (α)	0,71	0,74	0,76	0,79	0,83

Расчеты по опыту вносятся в таблицу 2.

Таблица 2. Определение водного потенциала методом Лилиенштерн

Концентрация раствора, моль/л	Длина полоски ткани, мм		Концентрация, при которой длина полосок не изменялась, М	Водный потенциал, кПа
	перед погружением в раствор	после пребывания в растворе		

Величина водного потенциала в клетках клубней картофеля в зависимости от тургорности может составлять -300...-700 кПа.

Работа 4. Получение вытяжки пигментов зеленого листа

Фотосинтез – процесс превращения энергии света, поглощаемого хлорофиллом, в химическую энергию органических соединений, образующихся из диоксида углерода и воды:



Фотосинтез происходит в хлоропластах, которые окружены двумя белково-липидными мембранами. Хлоропласт включает систему ламеллярных двойных мембран-тилакоидов, образованных внутренней мембраной. В тилакоидах осуществляется световая фаза фотосинтеза, т. е. преобразование энергии световых лучей в химическую энергию молекул АТФ НАДФ•Н₂, а биохимические реакции восстановления CO₂ и синтеза углеводов происходят в межтилакоидном пространстве.

В мембранах тилакоидов содержатся следующие пигменты: хлорофилл а (C₅₅H₇₂O₅N₄ Mg) – зеленый с синеватым эффектом; хлорофилл в (C₅₅H₇₀O₆N₄Mg) – зеленый с желтоватым оттенком; каротин (C₄₀H₅₆) – желто-оранжевый; ксантофилл (C₄₀H₅₆O₂) – золотисто-желтый. Все эти пигменты не растворимы в воде, но растворяются в органических растворителях (спирте, ацетоне и др.).

По химической природе хлорофилл представляет собой сложный эфир дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов – метанола CH₃OH и фитола C₂₀H₃₉OH. Хлорофилл содержит порфириновое ядро, состоящее из четырех пиррольных колец, соединенных друг с другом метиновыми мостиками =СН-. В центре порфиринового ядра расположен атом магния, соединенный с атомами азота пиррольных колец. Кроме того, в ядре

молекулы хлорофилла имеется пятое кольцо-циклопентановое, содержащее карбонильную группу. Хлорофилл а отличается от хлорофилла в лишь тем, что у второго пиррольного кольца вместо метильной группы имеется альдегидная.

Каротиноиды - это группа желтых пигментов, являющихся по химической природе тетратерпеноидами. Каротины (β -каротин) - непредельные углеводороды, содержащие два симметрично расположенных ионовых кольца, соединенных длинной углеродной цепью. Среди ксантофиллов, являющихся кислородсодержащими производными каротина, преобладает лютеин, имеющий в каждом ионовом кольце спиртовую группу.

Исследуемый материал: свежие или сушеные листья крапивы, примулы, шпоща или других растений.

Реактивы и оборудование: CaCO_3 соль, 85% этиловый спирт (20 мл), кварцевый песок или толченое стекло, вазелин, ножницы, фарфоровая ступка, колба (2 шт), воронка, стеклянная палочка, бумажные фильтры (2 шт).

Ход работы. Свежие или сушеные листья измельчить ножницами, отбросив крупные листья и черешки, поместить в ступку, добавить на кончике ножа CaCO_3 (для нейтрализации кислот клеточного сока) и немного кварцевого песка или стекла. Тщательно растереть, приливая понемногу этиловый спирт, смазать носик ступки с наружной стороны вазелином и слить полученный темно-зеленый раствор по палочке в воронку с фильтром. Прилить в ступку еще немного спирта, растереть и слить на тот же фильтр. Повторить эту операцию несколько раз до полного извлечения пигментов.

Тщательно помыть ступку, растереть листья с водой и профильтровать. Рассмотрев полученные вытяжки на свет, установить, какая из них представляет собой истинный раствор, а какая коллоидный.

Сделать вывод о растворимости пластидных пигментов в воде и в органическом растворителе (спирте). Использовать спиртовую вытяжку в следующих работах.

Работа 5. Разделение пигментов по Краусу

Метод Крауса основан на разной растворимости пигментов в спирте и бензине: хлорофилл, имеющий длинный углеводородный «хвост», и каротин, являющийся углеводородом, имеют большое сродство к полярному растворителю, тогда как ксантофилл (лютеин), будучи двухосновным спиртом, почти нерастворим в бензине.

Исследуемый материал: спиртовая вытяжка пигментов зеленого листа.

Реактивы и оборудование: этиловый спирт, бензин, пробирка с притертой крышкой.

Ход работы. Налить в пробирку 2-3 мл спиртовой вытяжки пигментов зеленого листа, добавить несколько больший объем бензина и 2-3 капли воды (чтобы спирт не смешивался с бензином). Закрыть пробирку, несколько раз сильно встряхнуть и дать отстояться. Если разделение пигментов будет недостаточно четким (оба слоя окрашены в зеленый цвет), то необходимо прилить еще бензина и продолжать взбалтывание. Помутнение нижнего слоя (от избытка воды) можно устранить, добавляя немного спирта. Отметить окраску нижнего спиртового слоя и верхнего бензинового (сделать рисунок).

Сделать выводы о растворимости пигментов в спирте и бензине.

Работа 6. Омыление хлорофилла щелочью

При добавлении щелочи к раствору хлорофилла происходит реакция омыления: отщепляются спирты - метанол и фитол, а двухосновная кислота хлорофиллин образует соль. Соли хлорофиллов имеют зеленую окраску, но отличаются от хлорофилла нерастворимостью в бензине.

Исследуемый материал: спиртовая вытяжка пигментов зеленого листа.

Реактивы и оборудование: бензин, 20% раствор КОН, пробирка с притертой крышкой.

Ход работы. К 2-3 мл спиртовой вытяжки пигментов добавить 4-5 капель 20% раствора КОН щелочи и взболтать. Прилить в пробирку равный объем бензина, сильно встряхнуть и дать отстояться.

Отметить окраску нижнего спиртового и верхнего бензинового слоев (зарисовать). Указать какие вещества растворены в спирте и какие в бензине, имея в виду, что желтые пигменты со щелочью не реагируют. Записать реакцию омыления хлорофилла.

Работа 7. Получение феофитина и восстановление металлорганической связи

Если к раствору хлорофилла добавить небольшое количество соляной кислоты, то получится буровато-оливковый феофитин – продукт замещения магния в молекуле хлорофилла двумя атомами водорода.

Исследуемый материал: спиртовая вытяжка пигментов хлорофилла.

Реактивы и оборудование: 10% соляная кислота, уксуснокислый цинк, пробирки, скальпель, держалка для пробирок, спиртовка, спички.

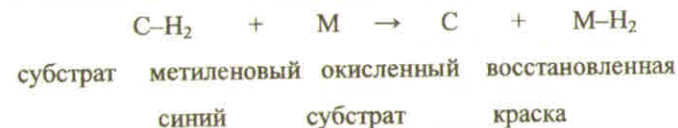
Ход работы. Налить в две пробирки по 3 – 4 мл спиртовой вытяжки пигментов зеленого листа и добавить в них по 2 – 3 капли 10% соляной кислоты. Отметить окраску конечного продукта реакции.

В одну из пробирок с феофитином внести несколько кристаллов уксуснокислого цинка и довести раствор до кипения (нагревать следует осторожно, не допуская выбрасывания жидкости из пробирки). Если окраска не изменится, добавить еще уксуснокислого цинка и продолжать нагревание. Отметить изменение окраски, вызванное замещением двух атомов водорода в феофитине атомом цинка. Зарисовать пробирки и написать уравнение прямой и обратной реакций.

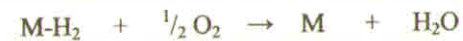
Работа 8. Обнаружение дегидрогеназ в растительном материале

Дегидрогеназы – ферменты, катализирующие перенос водорода от окисляемого субстрата к акцептору, имеющему более высокий окислительно –

восстановительный потенциал. Дегидрогеназы делятся на аэробные и анаэробные; первые переносят водород и электроны на молекулярный кислород, вторые на какой-либо промежуточный переносчик. Для определения активности дегидрогеназ можно использовать в качестве акцептора водорода метиленовый синий, который при восстановлении переходит в бесцветную лейкоформу:



При соприкосновении с молекулярным кислородом лейкоформа метиленового синего самопроизвольно окисляется и вновь приобретает окраску:



Поэтому данный опыт нужно проводить без доступа воздуха.

Исследуемый материал: наклонившиеся семена гороха.

Реактивы и оборудование: 50 мг/л метиленовой синей, вода дист., скальпель, коническая колба на 100-200 мл, фарфоровая чашка, пробирки с резиновыми пробками (2шт), карандаш по стеклу.

Ход работы. Очистить от кожуры 10 – 12 наклонившихся семян гороха и разделить их на семядоли. Половину материала поместить в колбу с водой и кипятить в течение 3 мин для разрушения ферментов. Затем поместить обе порции в пробирки и залить раствором метиленовой синей. Через 5 – 10 мин, когда семядоли интенсивно окрасятся, слить раствор краски, тщательно промыть материал водой, после чего заполнить пробирки до краев дистиллированной водой и закрыть пробками. Поставить пробирки в термостат или в водяную баню при 25 – 30° С.

Отметить обесцвечивание семядолей в одной из пробирок, после чего встряхнуть семена в фарфоровую чашку (без воды), оставить на воздухе и наблюдать восстановление окраски.

Описать результаты опыта и сделать выводы.

Работа 9. Определение пероксидазы

Пероксидаза – фермент катализирующий окисление полифенолов и некоторых ароматических аминов с помощью кислорода, перекиси водорода или органических примесей. Пероксидаза образует с перекисью водорода комплексное соединение, в результате чего перекись активируется и приобретает способность действовать как акцептор водорода.

Обнаружение пероксидазы в соке клубня картофеля основано на изменении окраски при окислении полифенолов в хиноны.

Исследуемый материал: клубни картофеля.

Реактивы и оборудование: 1% раствор гидрохинона, 3% раствор перекиси водорода, ножи, терка, марля, воронка, коническая колба на 50 мл, пробирки в штативе (4 шт).

Ход работы. Натирают на терке очищенный клубень картофеля. Из мезги отбирают сок через марлю и собирают в колбочку. В четыре пробирки вносят по 10 капель 1 % раствора гидрохинона. В первую добавляют 2 капли 3% перекиси водорода и 2 капли картофельного сока, во вторую - 2 капли 3% перекиси водорода, в третью – 2 капли картофельного сока, в четвертую – в четвертую также 2 капли картофельного сока, но предварительно прокипяченного в течение 1 мин, и 2 капли перекиси водорода.

При окислении гидрохинона в хинон раствор бурет. Наблюдается некоторое побурение самого картофельного сока без добавления гидрохинона и перекиси водорода, которое связано с действием полифенолоксидазы, окисляющей полифенолы тканей картофеля с участием молекулярного кислорода.

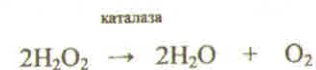
Отмечают окраску в пробирках и объясняют результаты опыта, которые записывают в форме таблицы.

Таблица 3. Обнаружение пероксидазы в соке картофеля

Вариант	Состав смеси в пробирке			Окраска раствора в пробирках
	картофельный сок – (носитель пероксидазы)	H ₂ O ₂	гидрохинон	
1	+	+	+	
2	-	+	+	
3	+	-	+	
4	+	-	+	

Работа 10. Определение активности каталазы

Каталаза в клетках выполняет функцию обезвреживания очень активного и потому опасного для живых клеток окислителя - пероксида водорода, катализируя реакцию



Этот фермент особенно активен в молодых растущих тканях. Он активен также в зеленых листьях, где участвует в процессе фотодыхания у C₃-растений. Для количественного определения активности каталазы можно использовать и газометрический метод.

Исследуемый материал: проростки кукурузы, бобов, тыквы, листья элодеи, молодые листья хлорофитума, традесканции.

Реактивы и оборудование: 5 %-ный раствор пероксида водорода, лупа, предметные и часовые стекла, лезвие безопасной бритвы, спиртовка.

Ход работы. С проростков делают срезы толщиной 1 мм, а с побегов отрывают отдельные листья, режут на небольшие кусочки. Часть срезов и листьев убивают, нагревая их в капле воды в пробирке над пламенем спиртовки.

Живые и убитые срезы и листья помещают в пробирку, добавляют немного воды и несколько капель раствора пероксида водорода. Под лупой наблюдают появление пузырьков газа у поверхности живых

срезов и листьев. Это выделяется кислород в результате разложения пероксида под воздействием каталазы. Отмечают отсутствие пузырьков у убитых объектов.

Работа 11. Определение состояния устьиц методом инфильтрации по

Молишу

Причиной устьичных движений может быть действие света, изменение обводненности тканей, температуры, концентрации CO_2 в межклетниках и др. В условиях недостаточности водообеспечения происходит гидроактивное закрытие устьиц. Причем они начинают закрываться еще до появления каких-либо внешних признаков водного дефицита. Поэтому степень открытости устьиц может служить физиологическим показателем для определения обеспеченности растений водой и установления сроков полива.

Определение состояния устьиц методом инфильтрации основано на способности жидкостей, смачивающих клеточные стенки, проникать через устьичные щели в ближайшие межклетники, вытесняя из последних воздух. При инфильтрации межклетников соответствующие участки листа становятся прозрачными.

В качестве инфильтрующих растворов берут органические жидкости, обладающие различной вязкостью и неодинаковой способностью смачивать клеточные стенки и поэтому по-разному проникать через устьичные отверстия в межклетники. Относительно легко проникает ксилол, труднее бензол, еще труднее – спирт. Разная способность этих жидкостей проникать в устьичные щели позволяет определить степень открытости устьиц.

Исследуемый материал: Десяти-пятнадцатидневные растения подсолнечника, герань.

Реактивы и оборудование: спирт, бензол, ксилол, капельницы.

Ход работы. Исследуют состояние устьиц у растений, находящихся в условиях оптимального и недостаточного водоснабжения. На соседние участки нижней стороны листа наносят последовательно спирт, бензол и

ксилол. Лист выдерживают в горизонтальном положении до полного исчезновения капель, которые могут либо испариться, либо проникнуть внутрь листа, и рассматривают его в проходящем свете. Если жидкость проникла в межклетники листа, то на нем появляются прозрачные пятна. Знаком «плюс» в схеме отмечают проникновение жидкости, знаком «минус» – отсутствие инфильтрации. На основании полученных данных делают заключение о разной степени раскрытия устьиц, исходя из того, что при инфильтрации только ксилолом они открыты слабо, ксилолом и бензолом – средне, ксилолом, бензолом и спиртом – сильно.

Результаты опыта записывают в таблицу по приведенной форме.

Таблица 4. Определение степени раскрытия устьиц

Условия опыта	Проникновение			Степень раскрытия устьиц
	спирта	бензола	ксилола	

Работа 12. Рост корней пшеницы в растворе чистой соли и смеси солей

Подбирая различные концентрации отдельных ионов, можно составить такую комбинацию, при которой данные растения будут развиваться лучше всего. Такой раствор называют уравновешенным.

Исследуемый материал: проростки растений.

Реактивы и оборудование: 0,5 н. раствор питательной смеси Хогланда-Снайдерса, 0,01 н. раствор NaOH , 0,01 н. раствор HCl , стаканчики на 50 мл, бюретки на 3 мл, магнитная мешалка, рН-метр.

Ход работы. В конические колбы на 100 мл наливают растворы по схеме опыта и закрывают горла колб пропарафинированными марлевыми крышками. На каждую марлевую крышку высаживают одинаковое количество проростков пшеницы. Корни погружают в раствор. Спустя 2 недели измеряют высоту проростков, число и длину корней и делают

соответствующие выводы. Результаты записывают в таблицу по приведенной форме.

Таблица 5. Развитие растений в зависимости от состава питательной смеси

Вариант опыта	рН питательной смеси	
	в начале опыта	в конце опыта
1	5	
2	6	
3	7	
4	8	

Работа 13. Наблюдение периодичности роста побега

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

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

Исследуемый материал: завершившие рост побеги травянистых или древесных растений.

Реактивы и оборудование: линейки.

Ход работы. Измеряют линейкой длину междоузлий годичного побега какого-либо травянистого или древесного растения. На основании полученных данных строят графики прироста междоузлий и побега. По оси ординат откладывают длину междоузлий и длину побега, по оси абсцисс –

номера междоузлий, считая от основания побега. Делают вывод о периодичности роста побега.

Результаты записывают в таблицу по приведенной форме.

Таблица 6. Наблюдение за ростом древесных побегов.

Длина, см	Номер междоузлия от основания побега										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	и т.д.
Междоузлия побега											

Работа 14. Защитное действие сахарозы на белки при отрицательных температурах

В экстремальных условиях, например при низких температурах, может произойти денатурация белков. Выпадение хлопьевидного осадка из сока, отжатого из растительной ткани, служит показателем повреждения. Сахароза образует связи с гидрофильными группами белков и способствует сохранению их нативной структуры при повреждающем действии низких температур.

Опыт заключается в замораживании и оттаивании отжатого из растительной ткани сока с добавлением сахарозы и без нее. Чтобы выяснить, влияет ли на устойчивость белков к низким температурам повышение осмотического давления среды, берут в качестве контроля к сахарозе не только воду, но изотонический раствор нейтральной соли, например хлорида натрия.

Исследуемый материал: листья капусты, клубень картофеля

Реактивы и оборудование: 1 М раствор сахарозы; 0,6 М раствор хлорида натрия; соль поваренная; снег или толченый лед, термометр до

-25° С.

Ход работы. Листья капусты или очищенный картофель натереть на терке, отжать сок через двойной слой марли, дать отстояться. Налить по 3 мл надосадочной жидкости в 4 пронумерованные пробирки. В первую добавить 2 мл 1 М раствора сахарозы, во вторую – 2 мл 0,6 М раствора хлорида натрия, в третью и четвертую по 2 мл воды и перемешать. 1,2,3 пробирки поместить в охлаждающую смесь снега или льда с солью (3:1 по объему), 4 пробирку оставить при комнатной температуре (контроль). Через 20 мин, когда сок в пробирке замерзнет, перенести пробирки в стакан с водой.

После оттаивания определить, не встряхивая, по внешнему виду жидкости в пробирках, остались ли белки в состоянии золя или произошла их коагуляция (образование хлопьев). Результаты записать в таблицу, сделать выводы.

Таблица 7. Коагуляция белков

Объект	№ пробирки	Вариант опыта	Образование хлопьев
	1	Сахароза, - 20° С	
	2	Хлорид натрия, - 20° С	
	3	Вода, - 20° С	
	4	Вода, комнатная температура	

Работа 15. Диагностика заболевания растений при голодании по элементам минерального питания

Распознавание признаков голодания растений, вызываемых недостатком тех или иных элементов минерального питания, крайне важно для устранения заболеваний путем своевременной подкормки. Внимательное изучение признаков голодания у растений окрестных полей, лугов поможет сделать вывод о дефиците тех или иных элементов в данном районе и дать

рекомендации о состоянии почв и внесении недостающих удобрений под культурное растение.

Исследуемый материал: больные листья, поврежденные побеги растений.

Реактивы и оборудование: цветные карандаши, атласы и книги с иллюстрациями признаков голодания.

Ход работы. При помощи таблицы 8 ставят диагноз заболевания растений.

Данные вносят в таблицу 9.

Таблица 8. Признаки заболеваний растений при голодании по элементам питания

Элемент	Симптомы недостаточности
N	Слабый рост, карликовость, склероморфизм. Отношение побеги/корни сдвинуто в пользу корней. Преждевременное пожелтение более старых листьев, их некротические концы
P	Задержка цветения, отсутствие роста, фиолетовая окраска листьев и стеблей, тенденция к скручиванию и перевертыванию листьев
K	Белые и бурые пятна, рваный край листа, дырки, отверстие в листе, краевой ожог листьев. По мере возрастания дефицита элемента повреждения увеличиваются
S	Сходны с симптомами азотной недостаточности. Отставание в росте растений. Листья от бледно-зеленой до кремовой и желтой окраски. При голодании по сере отсутствует характерный признак азотистого голодания – общее пожелтение всего растения
Mg	Белые и желтые пятна на листьях сливаются, лист бурет и отмирает. При глубоком дефиците листья узкие, по цвету – красные, оранжевые, пурпурные. Наблюдается слабый рост и межжилковый хлороз старых листьев
Ca	Гофрированные, сморщенные листья с некротическими зонами. Отсутствие верхушечных почек. Нарушение роста связанного с делением и растяжением клеток
Fe	Бледно-желтая окраска ткани листьев между жилками у молодых листьев, жилки остаются зелеными. Хлороз. Малая мощность растений, неурожай. Старые листья поражаются позже сходным образом
Mn	Однородная желтизна старых и молодых листьев, а также верхушечной почки. Межжилкового хлороза на поздних стадиях нет. На ранних - имеется угнетение роста и межжилковый хлороз

B	Отмирание верхушечных почек, закрученные, деформированные листья; черная гниль у корнеплодов свеклы, моркови; полые кочерыжки капусты
Zn	Ярко – желтая окраска всей поверхности листьев и зеленый цвет жилок. Желтые полосы на листьях злаков. Мелколистность верхушечных побегов. «Розеточность», «желтуха», «мелколистность», «пятнистость листьев» - так называется дефицит Zn
Cu	Бледно – желтая окраска листьев или полосатые закрученные листья. Вдоль краев листьев хлороз с последующим некрозом
Mo	Узкие, длинные, крученые листья, выемки на листовой пластинке, хлороз сложных листьев, включая черешок
Na	Растения не испытывают недостатка. Избыток проявляется в виде неоднородной пестроты, некроза верхушек листьев, краев и тканей между жилками
Cl	Из видимых симптомов – увядание растений, остальные симптомы специфичны для отдельных видов растений. Дефицит встречается редко

Таблица 9. Установление диагноза заболевания по признакам голодания растений

Вид растения и место обитания	Орган (побег, лист: верхний, нижний)	Описание признаков голодания	Рисунок	Диагноз	Способы устранения

ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ ДЛЯ ИТОГОВОГО САМОКОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Понятие о науке физиология растений.
2. Строение растительной клетки.
3. Основные физиологические функции структурных компонентов клетки.
4. Основные классы природных биомолекул. Понятие о метаболических путях
5. Белки. Строение, классификация, функции белков.
6. Ферменты. Строение, классификация, функции.
7. Углеводы. Строение, классификация, функции.

8. Липиды. Строение, классификация, функции.
9. Нуклеиновые кислоты. Строение ДНК и РНК, виды РНК их функции.
10. Репликация ДНК.
11. Транскрипция.
12. Синтез белка – трансляция.
13. Ферментативная регуляция жизнедеятельности растений.
14. Гормональная регуляция жизнедеятельности растений.
15. Понятие о раздражимости.
16. Общее понятие о фотосинтезе.
17. Понятие о пигментах. Их характеристика.
18. Световая фаза фотосинтеза.
19. Циклический и нециклический транспорт электронов.
20. Темновая фаза фотосинтеза, ее типы.
21. С₃-путь фотосинтеза, цикл Кальвина.
22. С₄-путь фотосинтеза, цикл Хэтча-Слэка.
23. Фотосинтез по типу толстянковых.
24. Фотодыхание.
25. Влияние различных факторов на фотосинтез.
26. Значение фотосинтеза для биосферы.
27. Понятие о дыхании. Субстраты и ферменты дыхания.
28. Гликолиз. Общая характеристика процесса, энергетика.
29. Цикл Кребса. Общая характеристика, энергетика.
30. Глиоксилатный цикл. Общая характеристика, энергетика.
31. Пентозофосфатный цикл. Общая характеристика, энергетика.
32. Брожение.
33. Прямое окисление сахаров.
34. Окислительное фосфорилирование.

35. Влияние внешних и внутренних факторов на дыхание.
36. Значение воды для растения.
37. Формы почвенной влаги.
38. Формы воды в растении.
39. Корневая система как орган поглощения воды.
40. Поступление воды в клетку.
41. Передвижение воды по сосудистой системе.
42. Транспирация.
43. Особенности водного обмена у растений разных экологических групп.
44. Поступление ионов в клетку (адсорбция на клеточной стенке, транспорт через плазматическую мембрану, движение по цитоплазме).
45. Почва как источник питательных веществ.
46. Значение и содержание минеральных элементов в растениях.
47. Содержание азота в растениях. Азотфиксаторы.
48. Содержание в растениях макроэлементов.
49. Содержание в растениях микроэлементов.
50. Применение удобрений.
51. Транспорт веществ по растению.
52. Фазы клеточного онтогенеза.
53. Онтогенез высших растений.
54. Регенерация у растений.
55. Ростовые движения растений.
56. Тропизмы, виды.
57. Нاستии, определение, виды.
58. Влияние факторов внешней среды на рост растений.
59. Механизмы адаптации растений.
60. Стресс, стрессорные факторы и их влияние на растения.

Рекомендуемая литература

1. Ермакова И.Л. Физиология растений. Высшая школа. 2005.
2. Иванова В.Б. Практикум по физиологии растений. 2004.
3. Кузнецов В.В. Физиология растений. Агропромиздат. 2003.
4. Рогожин В.В. Физиолого – биохимические механизмы формирования гипобиоза. 2000.
5. Рогожин В.В. Биохимия растений. СПб: ГИОРД, 2008.-420 с.
6. Рогожин В.В. Практикум по физиологии и биохимии растений.- СПб: ГИОРД, 2008.
7. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений. /Под ред. проф. Н.Н. Третьякова. – М.: Колос, 1998
8. Практикум по физиологии растений. /Под ред. проф. Н.Н. Третьякова. – М.: Агропромиздат, 2003

Список использованной литературы

1. Полевой В.В. Физиология растений. М.: Высшая школа. 1989.
2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. чл.-корр. РАСХН Н.Н.Третьякова. М.: Колос, 1989.
3. Беликов П.С., Дмитриева Г.А. Физиология растений. Учебное пособие. М.: изд-во Росс. ун-та дружбы народов. 1992.
4. Лебедев С.И. Физиология растений. Учебное пособие. МГУ. 1986.
5. Гавриленко В.Ф., Гусев М.В., Никитина К.А., Хофман П.М. Избранные главы физиологии растений. Учебное пособие. МГУ. 1986.
6. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. Т. 1 и Т. 2. М.: Мир, 1986.
7. Юсуфов А.Г. Лекции по эволюционной физиологии растений. М.: Высшая школа. 1986.
8. Филлипович Ю.Б. Основы биохимии. М. Агар. 1999
9. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. М. Высшая школа. 1998.
10. Терминология роста и развития растений./ Под ред. М.Х. Чайлахяна, наука. 1983.
11. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. Т.5 М.: Мир. 1987.

Сивцева Сахаяна Степановна
Андреева Марианна Ивановна

Методические указания к лабораторным занятиям по дисциплине
«Физиология растений» для студентов агротехнологического факультета

Компьютерный набор и верстка:
Ответственный за выпуск:

Андреева М.И.
Сивцева С.С.

Подписано в печать 30.11.10
Бумага офисная. Формат А5
Гарнитура Times New Roman
Усл.печ.л. 1,8 . Тираж 50 экз. Заказ № 150

Отпечатано на ризографе
Отдела автоматизации
Научной библиотеки
Федерального государственного
Образовательного учреждения
высшего профессионального
образования
«Якутской государственной
сельскохозяйственной академии»
677007, Якутск, Красильникова 15.