

Министерство образования Республики Беларусь

Учреждение образования
«Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»

О. М. Храмченкова

**ПРАКТИКУМ ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ
С ОСНОВАМИ МИКРОБИОЛОГИИ**

Часть 2

Практическое пособие
для студентов специальности 1 – 75 01 01 «Лесное хозяйство»

Гомель
2019

УДК 581.1(076)
ББК 28.57я73
Х 898

Рецензенты:

кандидат биологических наук Д. И. Каган
кандидат сельскохозяйственных наук М. С. Лазарева

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

Храмченкова О.М.

Х 898 Практикум по физиологии растений с основами микробиологии: практическое пособие. Часть 2 / О. М. Храмченкова; М-во образования РБ, Гомельский гос. ун-т им. Ф. Скорины. – Гомель: ГГУ, 2019 – 47 с.

В практическом руководстве представлен перечень лабораторных работ по дисциплине «Физиология растений с основами микробиологии» – разделам «Основы микробиологии», «Минеральное питание растений», «Взаимопревращения и передвижения веществ», «Рост и развитие растений», «Стресс и его регуляция у растений». Лабораторные работы нацелены на изучение особенностей физиологии древесных растений, влияния почвенной микрофлоры на жизнь высших растений. Приводится список рекомендуемой литературы.

Предназначено для преподавателей и студентов очной и заочной форм обучения специальности «Лесное хозяйство».

УДК 581.1(076)
ББК 28.57я73

© Храмченкова О. М., 2019
© УО «Гомельский
государственный университет
им. Ф. Скорины», 2019

Оглавление

Правила техники безопасности при выполнении практикума...	4
Требования к ведению лабораторного дневника и оформлению лабораторных работ.....	5
Введение.....	7
Занятие 8. Основы микробиологии.....	9
Занятие 9. Обнаружение отдельных элементов, входящих в состав растений.....	13
Занятие 10. Влияние внешних условий на минеральное питание растений.....	18
Занятие 11. Взаимопревращения и передвижение органических веществ в растениях.....	22
Занятие 12. Рост и развитие растений.....	26
Занятие 13. Стресс и его регуляция у растений.....	30
Тестовые задания.....	35
Литература.....	44

ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ПРАКТИКУМА

1 К выполнению практикума допускаются студенты, прошедшие инструктаж по безопасности работы в лабораториях.

2 Выполнять практикум следует в белом халате из хлопчатобумажной ткани, застегнутом на все пуговицы.

3 Категорически запрещается держать в лаборатории пищевые продукты, принимать пищу, пить воду из химической посуды.

4 Каждый студент должен выполнять лабораторные работы на закрепленном за ним учебном месте, соблюдать порядок проведения лабораторных работ, поддерживать порядок на своем рабочем месте.

5 Перед началом работы студенты обязаны изучить содержание и порядок проведения лабораторной работы, подготовить к работе рабочее место, убрать посторонние предметы.

6 Все сосуды, содержащие реактивы и продукты их взаимодействия, должны быть подписаны.

7 Запрещается пользоваться химической посудой, имеющей трещины, сколы и иные повреждения.

8 Для взятия навесок следует пользоваться бумажными подложками; запрещается насыпать любые субстанции непосредственно на чашу весов.

9 Для отмеривания любых жидкостей следует пользоваться мерной посудой.

10 С летучими и ядовитыми веществами следует работать только под тягой.

11 Необходимо обращать особое внимание на соблюдение требований безопасности при работе с электрическими и нагревательными приборами.

12 Для нагревания горючих и летучих реактивов следует пользоваться водяными банями; запрещается нагревать их на открытом огне или вблизи пламени.

13 После окончания работы привести в порядок рабочее место (убрать со стола реактивы и оборудование, удалить мусор, стол протереть).

ТРЕБОВАНИЯ К ВЕДЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОГО ДНЕВНИКА И ОФОРМЛЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

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

Лабораторный практикум по дисциплине включает 52 часа аудиторных занятий, и проводится в соответствии с учебной программой. Лабораторное занятие состоит из теоретической и практической частей. Теоретическая часть представляет собой письменное и тестовое рассмотрение вопросов учебного материала, перечень которых выдается лектором по дисциплине до начала выполнения практикума.

К каждому лабораторному занятию студенты обязаны готовиться в соответствии с «Перечнем вопросов для подготовки к лабораторным занятиям», составляя при этом краткий конспект ответов на все предложенные вопросы в виде схем, рисунков, терминологических словарей и пр. Основанием для допуска к выполнению практической части лабораторного занятия является краткий конспект ответов на вопросы «Перечня вопросов для подготовки к лабораторным занятиям», подготовленный студентом до начала лабораторного занятия. В начале каждого лабораторного занятия студенты выполняют тест по теоретическому материалу изучаемого раздела дисциплины.

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

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

Лабораторное занятие оформляется по схеме:

- 1 Номер по порядку название работы, дата.
- 2 Цель работы.

- 3 Объекты исследования.
- 4 Оборудование, материалы и реактивы.
- 5 Ход работы.
- 6 Результаты работы (таблицы, графики, рисунки).
- 7 Анализ результатов.
- 8 Выводы.

Требования к таблицам, графикам и рисункам. Все таблицы, графики и рисунки должны быть подписанными в соответствии с правилами оформления курсовой работы. Обязательно должны быть обозначены объекты исследования, варианты опыта, единицы измерения, название осей координат – на графиках.

Анализу результатов лабораторной работы должен включать: теоретическое обоснование изучаемой темы; сравнение полученных экспериментальных результатов с теоретическими данными; выявление закономерностей и их обсуждение.

Сформулированные выводы должны соответствовать цели лабораторной работы и полученным экспериментальным результатам.

После оформления лабораторной работы студент обязан ответить на вопросы преподавателя по теме, получить его подпись в лабораторном дневнике.

Введение

Физиология растений – наука о процессах жизнедеятельности и функциях растительного организма на протяжении его онтогенеза в постоянно изменяющихся условиях внешней среды. При изучении дисциплины государственного компонента «Физиология растений с основами микробиологии» студенты получают знания о жизнедеятельности растительного организма и роли почвенных микроорганизмов в жизни растений, необходимые для профессиональной деятельности специалистов лесного хозяйства.

Данная дисциплина относится к циклу дисциплин государственного компонента, модуль «Флористические ресурсы» типового учебного плана специальности 1 – 75 01 01 Лесное хозяйство. Физиология растений и микробиология тесно связаны с другими дисциплинами учебного плана, такими как «Органическая химия с основами биохимии растений», «Экология с основами метеорологии», «Ботаника», «Почвоведение с основами земледелия» «Дендрология», «Лесоведение», «Лесоводство». Она является теоретической основой для последующего усвоения специальных технологических дисциплин, связанных с лесоводством.

Цель изучения дисциплины государственного компонента состоит в формировании у студентов представлений о сущности и механизмах жизненных процессов, протекающих в растениях и микроорганизмах, способах управления этими процессами для повышения продуктивности и устойчивости растений.

Основные задачи дисциплины – дать знания о функциях растительного организма и бактериальной клетки, изучить зависимости физиологических процессов от факторов внешней среды, познать особенности взаимоотношений высших растений и микроорганизмов почвы, а также пути оптимизации условий жизнедеятельности растений.

Эффективность применения физиологических знаний на практике зависит от того, насколько целостным будет представление о механизмах и взаимосвязи физиологических процессов в растительном организме. Такой уровень знаний достигается благодаря проработке теоретического материала и закрепляется при выполнении лабораторных работ, анализе результатов. Успешное

освоение данной дисциплины невозможно без знания основ физики, химии, экологии, ботаники, анатомии растений, биохимии.

В соответствии с требованиями образовательного стандарта студент должен **знать**:

- сущность и механизмы жизненных процессов, протекающих в растениях и микроорганизмах;
- зависимость процессов жизнедеятельности от факторов среды;
- взаимоотношения высших растений и микроорганизмов почвы;
- влияние микроорганизмов на корневое питание, рост и развитие растений;

уметь:

- оценивать состояние растений в конкретных условиях среды обитания и диагностировать по внешним признакам простейшие причины нарушения жизненных процессов;
- регулировать численность и качественный состав микроорганизмов почвы путем проведения агротехнических и лесохозяйственных мероприятий;

владеть:

- методами оптимизации условий жизнедеятельности растений в конкретных условиях произрастания для повышения их продуктивности и устойчивости.

Дисциплина «Физиология растений» изучается студентами 2 курса специальности 1–75 01 01 «Лесное хозяйство». Общее количество часов для студентов очной формы обучения – 166 (3 зачетных единицы); аудиторных – 86, из них: лекции – 34, в том числе – УСР – 6, лабораторные занятия – 52. Форма отчетности – экзамен.

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

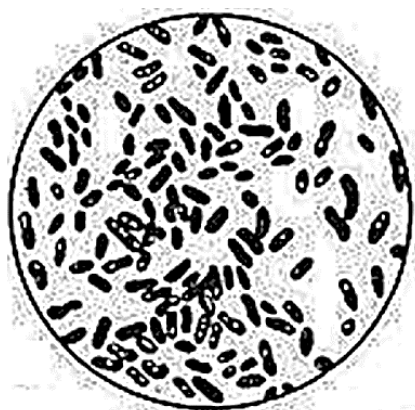
Автор выражает благодарность к.б.н. доценту И.И. Концевой за конструктивные замечания и методическую помощь в подготовке текста занятия «Основы микробиологии».

ЗАНЯТИЕ 8 ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ

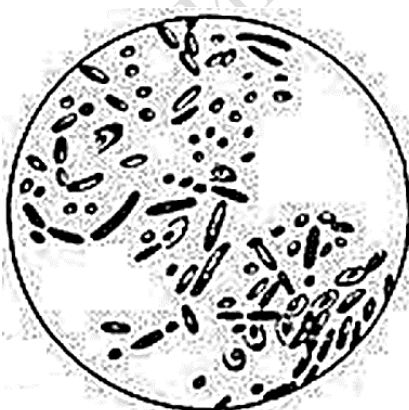
Лабораторная работа 8.1 Изучение культур азотфиксирующих бактерий

Существуют две группы фиксирующих атмосферный азот микроорганизмов. Одна из них находится в симбиозе с высшими растениями, образуя клубеньки на корнях. К этой группе относятся клубеньковые бактерии. Микроорганизмы другой группы обитают в почве независимо от растений. К ним относятся азотобактер, клостридий, бейеринкия и другие свободноживущие микроорганизмы. Потенциальные возможности симбиотических азотфиксаторов значительно выше, чем свободноживущих.

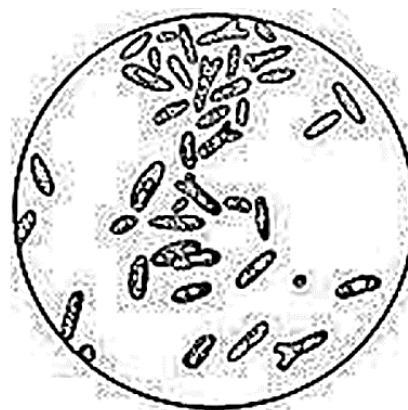
Азотобактер (*Azotobacter*) – род грамотрицательных бактерий, клетки относительно крупные (1-2 мкм в диаметре), обычно овальные, но могут иметь форму от палочковидной до сферической. Неспорообразующие. На микроскопических препаратах клетки могут располагаться одиночно, парами, неправильными скоплениями или, изредка, цепочками различной длины – рисунок.



Azotobacter chroococcum



Clostridium pasteurianum



Rhizobium meliloti

О наличии азотобактера в исследуемом материале судят по образованию через 4 – 6 суток вокруг комочков почвы характерных колоний. Эти колонии по консистенции слизистые, растекающиеся, сначала бесцветные, затем могут становиться бурыми. Азотобактер способен хорошо развиваться только в плодородных почвах, в силу чего является индикатором их окультуренности.

Клостридии – род грамположительных облигатно анаэробных бактерий. Азотфиксирующая функция выявлена у многих представителей рода *Clostridium*: *Cl. pasteurianum*, *Cl. beijerinckia*, *Cl.*

pectinovorum, *Cl. acetobutylicum* и других видов. Наиболее энергичный азотонакопитель – *Cl. pasteurianum* – анаэробные бактерии, живущие за счет сбраживания сахаров до масляной и уксусной кислот с образованием углекислого газа. Клетки *Cl. pasteurianum* крупные, длина 2,5-7,5 мкм, ширина 0,7-1,3 мкм. Располагаются они поодиночке, парами или образуют короткие цепочки – рисунок. Молодые клетки подвижны, имеют жгутики, плазма гомогенна. При старении клетки плазма становится гранулированной, в ней накапливается гранулеза (вещество типа крахмала). В центре клетки или ближе к ее концу формируется эндоспора, которая в поперечнике значительно шире, чем вегетативная клетка, поэтому клетка в этот период приобретает форму веретена.

Ризобии (*Rhizobium*)– граммотрицательные почвенные бактерии, вступающие в симбиотические отношения с бобовыми растениями (клубеньковые бактерии). Для клубеньковых бактерий характерно разнообразие формы клеток – полиморфность (рисунок).

Цель работы: изучить культуральные и морфологические особенности свободно живущих и симбиотических азотфиксирующих почвенных бактерий.

Материалы и оборудование: микроскоп; спиртовка; предметные и покровные стекла; препаровальная игла; химическая пробирка; пипетка Пастера; лезвие; склянка с водой; фильтровальная бумага; чашка Петри с культурой азотобактера; пробирка с культурой *Clostridium pasteurianum*; черная тушь; раствор Люголя в капельнице; метиленовый синий в капельнице; 1 %-ный раствор $FeCl_3$.

Растения: корни гороха посевного с клубеньками.

Ход работы:

8.1 Изучение культуры бактерий рода *Azotobacter*

Просмотреть чашку Петри с выращенной на ней культурой азотобактера и зарисовать, обращая внимание на цвет и форму колоний бактерий вокруг комочков почвы. Подсчитать число комочков почвы, содержащих азотобактер, рассчитать количество его клеток в 1 г почвы исходя из предположения, что каждый обросший комочек содержал по крайней мере одну клетку азотобактера. На основании количества комочков, обросших азотобактером, сделать заключение о степени окультуренности исследованной почвы.

Из не подсохших блестящих слизистых колоний приготовить временный нативный препарат, внося небольшое количество слизи с помощью препаровальной иглы в каплю воды на предметном стекле. Рассмотреть препарат при большом увеличении, изучить особенности клеток азотобактера. Мелкие овальные клетки азотобактера, расположенные парами, окружены слабо различимыми слизистыми капсулами. Для обнаружения капсул выполнить негативное контрастирование живых препаратов тушью. Небольшое количество культуры смешать на предметном стекле с тушью и накрыть препарат покровным стеклом. При микроскопии на черном фоне заметны бесцветные капсулы и заключенные в них клетки азотобактера.

Задание: описать ход работы. Оценить степень окультуренности исследованной почвы. Зарисовать клетки азотобактера, описать их особенности.

8.2 Изучение культуры бактерий *Clostridium pasteurianum*.

Пипеткой Пастера со стенки в нижней части пробирки, где в осадке мела, часто покрытые пленкой, накапливаются клостридии, захватить небольшой объем материала. Быстро перенести на предметное стекло, приготовить нативный препарат. Рассмотреть препарат при большом увеличении, изучить особенности клеток *Clostridium pasteurianum*. К одному краю покровного стекла прилить каплю раствора Люголя, к другому придвинуть фильтровальную бумагу, которая засасывает раствор под покровное стекло. При микроскопировании препарата видны клетки клостридиев с потемневшим содержанием. Спора в клетке остается при этом неокрашенной и хорошо различима на темном фоне.

Выполнить пробу на масляную кислоту. В пробирку отобрать 5 мл накопительной культуры, прилить 1 мл раствора FeCl_3 , подогреть в пламени спиртовки. Образующееся масляно-кислое железо (бутират) изменяет окраску раствора с соломенно-желтого на темно-бурый (чайный) цвет, в проходящем свете – раствор кроваво-красного цвета.

Задание: описать ход работы. Зарисовать клетки *Clostridium pasteurianum*, описать их особенности.

8.3 Изучение культуры бактерий *Rhizobium pisi*

За месяц до лабораторной работы посеять предварительно замоченные (7 суток, под марлей, воду ежедневно менять) семена гороха посевного в почву с рН = 6,0 – 7,0. Горшки для посева – глубиной не менее 20 см. Культуру постоянно поливать, не переувлажняя. В день проведения лабораторной работы аккуратно выкопать растения, промыть корни, отделить корешки с образовавшимися клубеньками.

Рассмотреть клубеньки на корнях гороха посевного, зарисовать форму клубеньков и их расположение на корнях, подсчитать число клубеньков, измерить их.

Сделать срез клубенька бритвой, поместить его в каплю воды на предметное стекло, покрыть покровным стеклом, рассмотреть под микроскопом при малом, а затем при большом увеличении. Внутри клеток клубенька видны мелкие палочки и/или бактериоиды клубеньковых бактерий. Для лучшей видимости бактерий приготовить фиксированный препарат, окрашенный метиленовым синим.

Приготовить мазок: клубенек разрезать на две части. Место разреза многократно проткнуть препаровальной иглой для разрушения клеток клубенька. Из разрушенного клубенька отжать капельку жидкости на предметное стекло, разбавить ее каплей стерильной воды, приготовить мазок. Мазок подсушить над пламенем спиртовки, зафиксировать 3 секунды в пламени спиртовки, окрасить метиленовым синим в течение 1-5 мин, тщательно промыть водой, рассмотреть под микроскопом. На препарате хорошо видна морфология клеток клубеньковых бактерий.

Задание: описать ход работы. Зарисовать клетки *Rhizobium pisi*, описать их особенности.

ЗАНЯТИЕ 9 ОБНАРУЖЕНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ РАСТЕНИЙ

Лабораторная работа 9.1 Микрохимический анализ золы растений

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

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

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

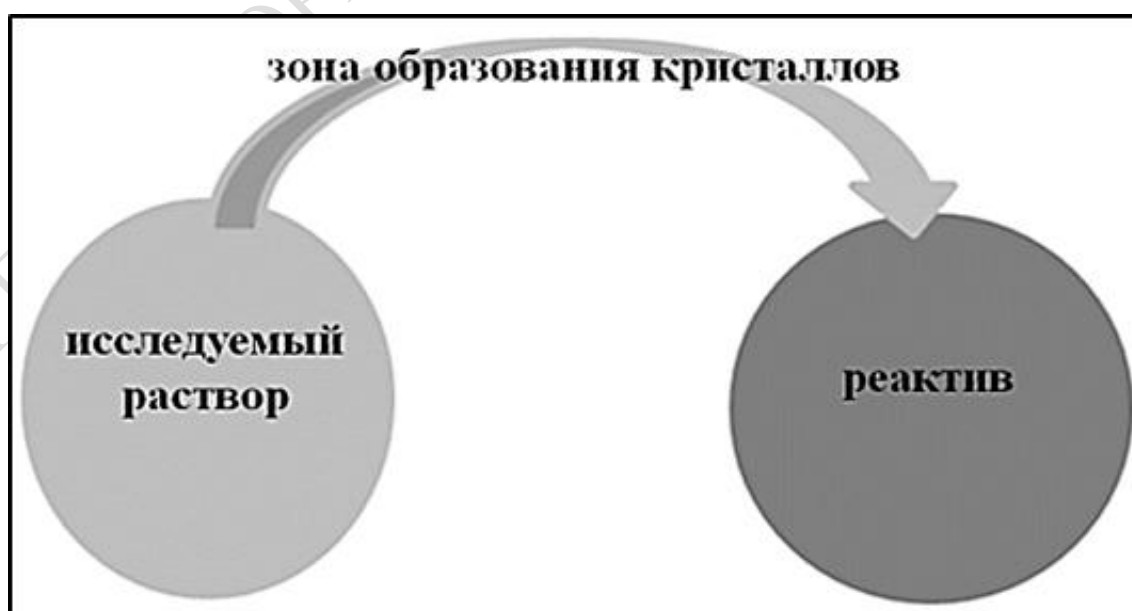
Растения: зола древесных растений.

Ход работы:


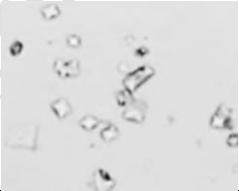
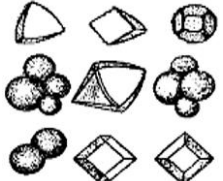
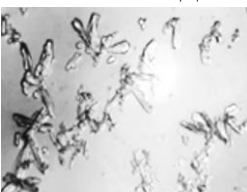
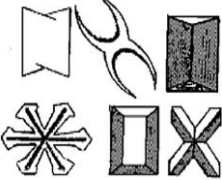
К навеске зола 1 г в фарфоровый тигель, прилить 1 мл концентрированной HNO_3 , перемешать, прилить 15 мл воды, нагреть до кипения, быстро отфильтровать горячий раствор от нерастворимых частиц угля и кремнезема. Фильтрат разделить на две части. Одну часть разлить в три пробирки по 2-3 мл для открытия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

Для открытия макроэлементов проделать с растворами следующие реакции (таблица). Одновременно с операциями в пробирках провести те же реакции на предметных стеклах, рассмотреть кристаллы выпавших осадков под микроскопом при малом увеличении и без покровного стекла, зарисовать их.

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



Открытие макроэлементов в золе

Открытый ион	Проведение реакции, уравнение реакции	Результат
K^+	<p>Прибавить на кончике смоченной стеклянной палочки сухого кобальт-нитрита и 1-2 мл этилового спирта. Оставить на 30 мин.</p> $Na_3[Co(NO_2)_6] + 2KNO_3 \rightarrow NaK_2[Co(NO_2)_6] \downarrow + 2NaNO_3$	<p>Желтый осадок</p> 
Ca^{2+}	<p>Прилить 0,5 – 1 мл 5 % раствора щавелевой кислоты</p> $Ca^{2+} + C_2O_4^{2-} \rightarrow CaC_2O_4 \downarrow$	<p>Белая муть или белый осадок</p> 
PO_4^{3-}	<p>Внести небольшой кристалл NH_4NO_3, нагреть до кипения и прибавить 1 мл 10 % раствора $(NH_4)_2MoO_4$</p> $H_3PO_4 + 12(NH_4)_2MoO_4 + 21HNO_3 \rightarrow (NH_4)_3PO_4 \cdot 12MoO_3 \downarrow + 21NH_4NO_3 + 12H_2O$	<p>Золотисто-желтый осадок</p> 
SO_4^{2-}	<p>Прилить 1 мл 10 % раствора $BaCl_2$</p> $SO_4^{2-} + Ba^{2+} \rightarrow BaSO_4 \downarrow$	<p>Белая муть или белый осадок</p> 
Mg^{2+}	<p>Прилить 1 мл 10 % раствора аммиака, затем – 2 мл 1 % раствора Na_2HPO_4</p> $Mg(NO_3)_2 + Na_2HPO_4 + NH_3 \rightarrow NH_4MgPO_4 \downarrow + 2NaNO_3$	<p>Белая муть или белый осадок</p> 

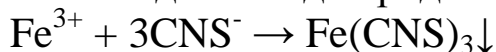
* – приведенные выше реакции проводят и в пробирках, и на предметных стеклах.

Следующие реакции проводят только в пробирках.

Облить осадок, оставшийся на фильтре, 10 мл 10 % раствора HNO_3 и разлить раствор в две пробирки по 2-3 мл.

Для открытия железа в одну пробирку прилить 2-3 капли 5 %

раствора NH_4CNS – при наличии железа появляется красное окрашивание раствора – выпадает осадок роданида железа.



Для открытия марганца прилить к осадку 0,5 мл концентрированной HNO_3 и добавляют около 0,1 г надсернистого аммония (или 0,5 г перекиси свинца), нагреть в течение 4-5 мин. в кипящей воде. При наличии марганца раствор окрашивается в фиолетовый цвет.

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

Лабораторная работа 9.2 Обнаружение нитратов в растениях

Соли азотной кислоты (нитраты), поглощаемые корнями из почвы, восстанавливаются в растении до аммиака через ряд этапов, каждый из которых катализирует особый фермент. Аммиак связывается кетокислотами (α -кетоглутаровой, щавелевоуксусной и пировиноградной), образуя в процессе восстановительного аминирования первичные аминокислоты – глутаминовую, аспарагиновую и аланин. Другие аминокислоты образуются путем трансаминирования или ферментативного превращения одних аминокислот в другие. При достаточном содержании растворимых углеводов и высокой активности соответствующих ферментов перечисленные биохимические процессы происходят в корнях. Однако часть нитратов (нередко весьма значительная) может пройти через паренхиму корня в неизменном виде. В этом случае нитраты попадают в сосуды ксилемы и поднимаются с восходящим током к листьям, где и происходит их восстановление. Для восстановления нитратов требуется АТФ, образующаяся в процессе окислительного или фотофосфорилирования. Определение содержания нитратов в соке, отжатом из стеблей или черешков, позволяет судить о восстановлении нитратов в корнях: чем меньше обнаруживается ионов NO_3^- в соке, тем полнее проходит этот процесс в клетках корня. Сопоставление содержания нитратов в черешках и листовых пластинках дает представление о нитратредуктазной активности клеток мезофилла. Для обнаружения нитратов можно использовать реакцию с дифениламином, который в присутствии иона NO_3^-

образует синюю анилиновую краску. По интенсивности посинения можно приблизительно судить о количестве нитратов в исследуемом объекте.

Цель работы: обнаружение нитратов в тканях комнатных растений.

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

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

Ход работы:

Отрезать часть стебля с листом. На белую пластиковую тарелку поместить кусочки стебля, черешка и листовой пластинки испытуемого вида растения, размять эти кусочки стеклянной палочкой (палочку каждый раз споласкивать чистой водой и вытирать). Подготовленные фрагменты растительных тканей облить раствором дифениламина в серной кислоте, отметить появление синей окраски. Результаты наблюдений записать в таблицу, оценить интенсивность окраски по пятибалльной шкале. В качестве образца для сравнения в трех пробирках провести реакции растворов KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ и NH_4NO_3 с дифениламином, принимая за оценку «5» результат реакции с наиболее интенсивным окрашиванием – в пробирку прилить 1 мл раствора испытуемой соли, добавить 0,5 мл раствора дифениламина, пробирку закрыть пробкой, взболтать содержимое.

Количество нитратов в растениях

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

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

ЗАНЯТИЕ 10 ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ УСЛОВИЙ НА МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ

Лабораторная работа 10.1 Физиологическая реакция солей

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

Цель работы: установить физиологическую реакцию солей.

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

Растения: 10-дневные проростки любых зерновых культур.

Ход работы:

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

Физиологическая реакция солей

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

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

Лабораторная работа 10.2 Определение общей и рабочей адсорбирующей поверхности корневой системы (по И.И. Колосову)

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

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

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

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

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

Материалы и оборудование: спектрофотометр; 4 кюветы к нему; раствор метиленовой сини; дистиллированная вода; фильтровальная бумага; 4 стакана; 0,2н раствор CaCl₂; мерный цилиндр, пинцет.

Растения: двухнедельные проростки любых сельскохозяйственных культур с развитыми корнями.

Ход работы:

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

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

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

Определить оптическую плотность растворов метиленовой сини при $\lambda = 668$ нм после погружения в них корней. В качестве стандартного раствора использовать исходный раствор метиленовой сини.

Концентрацию метиленовой сини в стаканах рассчитать по формуле:

$$C_x = C_1 \cdot D_1 / D_x,$$

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

C_1 – концентрация метиленовой сини в стандартном растворе;

D_1 – оптическая плотность стандартного раствора;

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

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

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

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

Определение объема корней и концентрации метиленовой сини

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

Определение адсорбирующей поверхности корней

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

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

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

ЗАНЯТИЕ 11 ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ И ПЕРЕДВИЖЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В РАСТЕНИЯХ

Лабораторная работа 11.1 Обнаружение белков, крахмала и жиров в семенах растений

Основными формами запасных веществ в семенах являются крахмал, жиры и белки. Все семена по преобладающей форме запасных веществ делят на *крахмалистые* и *маслянистые* семена. К крахмалистым относят семена большинства хлебных злаков и зернобобовых, каштана, акаций, дуба и некоторых других. Семена с преобладанием жиров формируются у конопли, льна, мака, подсолнечника, хлопчатника, кедра, сосны, ели, пихты, тисса и других хвойных, а также у липы, грецкого ореха, лещины, бука и многих других. Например, в семенах дуба черешчатого содержится около 47 % крахмала и только 3 % жира, в семенах сосны – до 35 % жиров и около 5 % углеводов (в основном гемицеллюлоз при почти полном отсутствии крахмала). Семена обеих групп накапливают значительные количества запасных белков, причем маслянистые семена содержат белков, как правило, больше, чем крахмалистые.

При созревании семян наблюдаются глубокие превращения разнообразных органических веществ. По мере завершения роста зародыша в созревающих семенах происходит накопление больших количеств сахаров (у злаков эту фазу называют молочной спелостью). Затем начинается синтез крахмала. В крахмалистых семенах процесс синтеза крахмала продолжается до полного созревания, в результате чего семена становятся твердыми и крепкими.

Превращение глюкозы в крахмал происходит и на ранних этапах созревания маслянистых семян. Так, например, в начале июля в семенах лещины содержится около 8 % сахаров, 22 % крахмала и только 3 % жиров. На самых заключительных этапах созревания маслянистых семян происходит интенсивное накопление в них различных масел и других жироподобных веществ. Например, у лещины за три летних месяца количество жиров в семенах увеличивается в 20 раз, а углеводов уменьшается в 7 раз.

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

11.1.1 Экспресс-обнаружение белка в семенах разных видов растений

Материалы и оборудование: весы; ступка с пестиком; цилиндр на 10 мл; пробирки; стаканчики с водой; 30%-ный раствор NaOH; 5%-ный раствор CuSO₄.

Растения: семена овса (или другой зерновой культуры), желуди дуба, семена подсолнечника, орешки липы.

Ход работы:

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

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

11.1.2 Экспресс-обнаружение крахмала в семенах и древесине

Материалы и оборудование: весы; электроплитка; ступка с пестиком; нож; цилиндр на 10 мл; выпарительные чашки; раствор Люголя.

Растения: семена овса (или другой зерновой культуры), желуди дуба, семена подсолнечника, орешки липы, свежесрезанные ветки деревьев диаметром не менее 0,5 см.

Ход работы:

Около 0,2 г семян растереть в ступке с 2 мл воды, перенести в выпарительную чашку, прилить еще 2 мл воды, довести до кипения, охладить, добавить каплю раствора Люголя. Определить по окрашиванию, имеется ли крахмал в семенах. По интенсивности окраски смесей в чашках сделать вывод о содержании крахмала в семенах изучаемых видов растений.

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

По интенсивности окраски смесей в чашках сделать вывод о содержании крахмала в заболони изучаемых видов растений.

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

11.1.3 Экспресс-метод открытия масел в семенах

Материалы и оборудование: писчая бумага; ступка с пестиком.

Растения: семена овса (или другой зерновой культуры), желуди дуба, семена подсолнечника, орешки липы.

Ход работы:

Несколько семян поместить на листке бумаги. Пестиком раздавить каждое семя, выдавливая из него масло (если семена очень крепкие – предварительно слегка измельчить их в ступке). Просмотреть бумагу на свет. Подсчитать количество пятен масла, окрашенных в буроватый цвет, и рассчитать процент семян, давших эти пятна. В бурый цвет окрашено масло семян, утративших всхожесть.

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

Лабораторная работа 11.2 Экспресс-метод проведения реакции Меуле для различения древесины хвойных и лиственных пород

Наряду с анатомическими исследованиями древесины (древесина хвойных распознается по наличию трахеид с окаймленными порами; древесина лиственных – по наличию сосудов), возможно быстрое различение древесины этих двух групп древесных пород на основании различий их вторичных веществ.

Цель работы: освоить гистохимический метод различения древесины хвойных и лиственных пород.

Материалы и оборудование: 10 % раствор KMnO_4 ; фильтры; концентрированная HCl ; 25 % раствор NH_3 .

Растения: свежие спилы лиственных (береза, липа) и хвойных (сосна, ель) пород.

Ход работы:

Реакцию следует проводить на свежих спилах. Нанести на исследуемые куски древесины по капле 10 % раствора KMnO_4 и через минуту удалить их фильтровальной бумагой. Смочить те же участки

древесины каплей концентрированной HCl и убрать каплю. В заключение смочить каплей 25 % раствора аммиака. Эта реакция носит название реакции Меуле. Древесина лиственных пород окрашивается в красный цвет. Древесина хвойных – не окрашивается, или желтеет.

Задание: описать схему опыта. Установить принадлежность спила к хвойным или лиственным породам.

Лабораторная работа 11.3 Химическая диагностика степени вызревания побега (по И.М. Рядновой)

При созревании побега в его клетках увеличивается количество лигнина, обуславливающего одревеснение тканей.

Цель работы: освоить методику химической диагностики степени вызревания побега

Материалы и оборудование: бритва; предметное стекло; 10 % флороглюцин в концентрированной HCl; стеклянные палочки.

Растения: побеги древесных культур.

Ход работы:

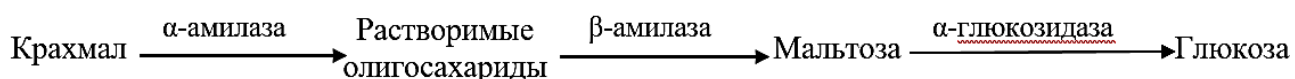
Сделать поперечные срезы травянистых и одревесневших побегов одной породы или срезы из разных зон одного побега, не закончившего созревание. Смочить срезы на предметном стекле 10 % раствором флороглюцина в концентрированной HCl. Одревесневшие ткани окрашиваются в интенсивный красный цвет, неодревесневшие – не окрашиваются.

Задание: описать схему опыта, сделать вывод.

ЗАНЯТИЕ 12 РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ

Лабораторная работа 12.1 Обнаружение амилазы в прорастающих семенах

Характер и интенсивность физиологических процессов, протекающих в прорастающих семенах, зависят от активности ферментов и от условий окружающей среды. Главная особенность прорастания и его общая биохимическая направленность – распад высокомолекулярных веществ до растворимых низкомолекулярных при участии воды и под действием ферментов, прежде всего, амилазы. Частично ферменты находятся в эндосперме или зародыше в связанном, неактивном состоянии и под влиянием набухания переходят в активное состояние. Под влиянием амилазы крахмал в семени переводится в декстрины и мальтозу. Мальтоза под влиянием мальтазы расщепляется при прорастании семян до глюкозы. Одновременно с накоплением глюкозы идет образование сахарозы, которая используется растущим проростком.



Цель работы: убедиться в том, что ферменты образуются в процессе жизнедеятельности растения.

Материалы и оборудование: чашки Петри с пластинками крахмального агар-агара (2 % крахмальный клейстер + 2 % агар-агар); скальпель; пинцет; стаканчик с водой» раствор Люголя, разбавленный водой 1:10.

Растения: сухие и проросшие семена ячменя или овса, подсолнечника и тыквы.

Ход работы:

Сухие семена 5. Слабый раствор йода в иодистом калии.

Ход работы:

Несколько не проросших зерновок разрезать пополам, слегка смочить водой и разложить на одной стороне пластинки из крахмального агара в чашке Петри поверхностью разреза вниз, не вдавливая семена в пластинку. На другую половинку агаровой пластинки поместить половинки проросших семян того же растения (желательно оставить на некоторых проросших семенах корешки и

приложить их к поверхности крахмального агара). Закрывать чашку крышкой, чтобы крахмальный агар не подсыхал. Через час осторожно снять пинцетом семена и облить всю пластинку слабым раствором Люголя.

Задание: описать схему опыта, сделать вывод.

Лабораторная работа 12.2 Диагностика глубины покоя растений по химическим показателям (по Генкелю и Окниной)

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

Цель работы: определить глубину покоя древесных растений.

Материалы и оборудование: бритвы; предметное стекло; концентрированная H_2SO_4 ; глицерин; растворы: йода в KI, Судан-3 (10 мг судана в 5 мл спирта и 5 мл глицерина), α -нафтол (2 % раствор в спирте), 70 % этанол.

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

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

1. Йод-калий-йод: почернение с крахмалом.
2. Судан-3. Через 5-10 минут промыть срезы 70%-ным спиртом: оранжево-красное окрашивание с маслами.
3. Альфа-нафтол и далее 1-2 капли концентрированной серной кислоты: темно-малиновое окрашивание в присутствии сахаров.

При проведении этих проб в осенний период в древесине и почках обнаруживается крахмал, а масла, как правило, отсутствуют. В период глубокого покоя, наоборот, отсутствует крахмал, но

получается интенсивная реакция на масла и сахара. Ближе к весне реакция на сахара усиливается, а на масла ослабевает. Отметить особенности реакции у разных пород, сравниваемых одновременно.

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

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

Лабораторная работа 12.3 Наблюдение периодичности роста древесных побегов

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

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

Цель работы: оценить периодичность роста побегов древесных растений.

Материалы и оборудование: линейка, миллиметровая бумага.

Растения: ветки 2-3 видов деревьев (береза повислая, клен ясенелистный, дуб черешчатый) длиной не менее 1,0 м.

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

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

Ход роста древесных побегов

Номер междоузлия от основания побега	Береза повислая		Клен ясенелистный		Дуб черешчатый	
	длина междоузл ия	длина побега	длина междоузли я	длина побега	длина между злия	длина побега
1						
2						
3						
4 и т.д.						

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

ЗАНЯТИЕ 13 СТРЕСС И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ У РАСТЕНИЙ

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

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

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

Материалы и оборудование: электроплитка; водяная баня; термометр; пробочное сверло большого диаметра (8-10 мм); химические стаканы; кристаллизатор; скальпель; пробирки; цилиндр на 10 мл; NaCl; снег или кубики льда; 2М растворы сахарозы; 12 %-ный раствор глицерина.

Растения: корнеплоды свеклы.

Ход работы:

Вариантами опыта являются результаты, полученные каждой парой студентов.

Пробирки пометить в соответствии со схемой опыта. Схему занести в лабораторный дневник. Внести в пробирки по 5 мл следующих жидкостей:

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

6) 12%-ного раствора глицерина и 1М раствора сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл);

7) 12 %-ного раствора глицерина и 0,5М раствора сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл).

Из корнеплода столовой свеклы пробочным сверлом диаметром 8-10 мм вырезать цилиндр и разрезать его на диски толщиной 2-3 мм. Все диски должны быть одинаковыми. Затем их поместить в химический стакан и тщательно промыть водой, чтобы удалить клеточный сок, вытекающий из поврежденных клеток. Отмытые диски по 5 штук поместить в 7 пробирок с растворами.

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

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

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

Лабораторная работа 13.2 Определение устойчивости тканей листьев растений к высоким температурам

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

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

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

Растения: веточки туи западной, листья комнатных растений – пеларгонии зональной, гибискуса китайского и др.

Ход работы:

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

В водяной бане поддерживать температуру 40 °С. В воду опустить ветки и листья всех растений, взятых для опыта. Первую пробу извлечь из бани через 20 мин, временно перенести в кристаллизатор с водой комнатной температуры. Затем температуру в бане поднять на 5 °С. Через 5 мин из нее следует извлечь вторую пробу листьев, их так же поместить в кристаллизатор с водой. Постепенно температуру воды в бане доводят до 60 °С, забирая пробы каждые 5 мин после увеличения температуры в бане на каждые 5 °С.

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

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

Задание: описать ход работы. Сравнить степень повреждения листьев при разной температуре у разных растений. Листья зарисовать, раскрасить поврежденные участки. Сделать выводы.

Лабораторная работа 13.3 Выявление степени солеустойчивости растений по солевым некрозам

В зависимости от типа анионов выделяют хлоридный, сульфатный, хлоридно-сульфатный и карбонатный типы засоления почв. Плохой рост гликофитов на засоленных почвах обусловлен совместным действием на растения ряда факторов: физиологической засухи (ввиду высокого осмотического давления почвенного

раствора), неблагоприятного ионного состава почвенного раствора, щелочной реакцией почвенного раствора, конкурентных взаимоотношений ионов при поглощении растением (в результате чего происходит поглощение избыточного количества балластных элементов) и т.д. Для сравнительной оценки степени солеустойчивости растений можно использовать особенности состояния листьев после их выдерживания в достаточно концентрированных растворах солей, с которыми обычно бывает связано засоление почвы.

Цель работы: сравнительная оценка солеустойчивости растений по солевым некрозам листьев.

Материалы и оборудование: стаканы химические на 600 мл – по 4 шт. на один рабочий стол; миллиметровая бумага; 5 % растворы солей NaCl, Na₂SO₄ и Na₂CO₃; дистиллированная вода,.

Растения: пеларгонии зональной и гибискуса китайского.

Ход работы:

Вариантами опыта являются результаты, полученные каждой парой студентов. В химические стаканы налить по 200 мл 5 % растворов NaCl, Na₂SO₄ и Na₂CO₃, а также дистиллированной воды. Срезать по одному листу растений изучаемых видов, на миллиметровой бумаге вывести их абрис для последующего определения площади листовой пластинки. Листья изучаемых растений опустить в воду (контрольный вариант) и растворы солей NaCl, Na₂SO₄ и Na₂CO₃.

Через 15, 30 и 45 минут произвести наблюдения за состоянием листьев, отмечая такие признаки повреждений, как потеря тургора, появление инфильтрационных пятен, появление участков отмерших тканей листа и его подсыхание, скручивание краев листьев и т.д.

Определить степень повреждения листьев солями, измеряя каждый раз площадь, занятую некрозами, и выражая ее в процентах от всей площади листьев, участвующих в данном опыте. Результаты опыта записать в таблицу.

Влияние растворов солей на степень повреждения листьев

Растение	Вариант опыта	Контроль, H ₂ O	Применяемые растворы		
			NaCl	Na ₂ SO ₄	Na ₂ CO ₃
через 15 мин					
Пеларгония зональная	1				
	2				
	3 и т.д.				
Гибискус китайский	1				
	2				
	3 и т.д.				
через 30 мин					
Пеларгония зональная	1				
	2				
	3 и т.д.				
Гибискус китайский	1				
	2				
	3 и т.д.				
через 45 мин					
Пеларгония зональная	1				
	2				
	3 и т.д.				
Гибискус китайский	1				
	2				
	3 и т.д.				

Задание: описать ход работы. Сделать выводы о солеустойчивости изучаемых видов растений и фитотоксичности применявшихся солей.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1 Увеличение диаметров сосудов ксилемы приводит к изменению гидравлической проводимости, которая:

а) увеличивается; б) незначительно уменьшается; в) остается неизменной; г) резко уменьшается.

2 Указать период, в который может наблюдаться «плач» растений:

а) зимний и осенний; б) только летний; в) весенний и осенний; г) весенний и летний.

3 Движение воды от клеток ризодермы к сосудам ксилемы, проходящее по клеточным стенкам и межклетникам, называется:

а) симпластный путь; б) апопластный путь; в) трансмембранный путь; г) комбинированный путь.

4 Плазмолиз это:

а) отставание тонопласта от цитоплазмы;
б) отставание цитоплазмы от плазмалеммы;
в) отставание протоплазмы от клеточной стенки;
г) явление, обратное тургору.

5 Что обуславливает поглощение воды корнями растений при интенсивной транспирации?

а) корневое давление; б) градиент водного потенциала; в) силы когезии; г) силы адгезии.

6 Функцию регуляции осмотического давления в клетке выполняет:

а) вакуоль; б) хлоропласт; в) аппарат Гольджи; г) митохондрия.

7 Движение воды по растению происходит потому, что существует большая разница между водным потенциалом атмосферы и ...

а) листа; б) корня; в) почвенного раствора; г) стебля.

8 Сосущая сила $S = P - T$. Какое значение будет иметь S при насыщении клетки водой?

а) $S = P$; б) $S = 0$; в) $S > 0$; г) $S = T$.

9 Основной поглощающей зоной корня является зона:

- а) корневого чехлика; б) деления; в) растяжения; г) корневых волосков.

10 Плазмолиз можно наблюдать при погружении ткани в раствор:

- а) гипотонический; б) изотонический; в) гипертонический; г) агипотонический и гипертонический.

11 Каким путем идет передвижение воды в растении?

- а) апопластическим; б) симпластическим; в) трансмембранным; г) всеми указанными путями.

12 В какой последовательности протекает плазмолиз?

- а) вогнутый → выпуклый → уголковый;
- б) уголковый → выпуклый → вогнутый;
- в) уголковый → вогнутый → выпуклый;
- г) выпуклый → уголковый → вогнутый.

13 Восходящий ток у семенных растений обеспечивают:

- а) ситовидные трубки; б) трахеиды и ситовидные трубки; в) только сосуды; г) сосуды и трахеиды

14 Тургор – это:

- а) явление, приводящее к сжатию цитоплазмы и изгибанию клеточной оболочки;
- б) явление, приводящее к отставанию цитоплазмы от клеточной оболочки;
- в) явление, приводящее к потере воды цитоплазмой;
- г) напряженное состояние клетки, связанное с ее насыщением водой.

15 Какие процессы включает в себя водный обмен растения?

- а) поглощение и расходование воды;
- б) поглощение и перемещение воды по растению;
- в) перемещение воды по растению и ее расходование;
- г) поглощение воды, перемещение ее по растению и расходование.

16 Укажите продукты нециклического фотофосфорилирования:
а) ФГК, Рибулез-1,5-дифосфат; б) НАДФН+Н⁺, О₂, глюкоза;
в) АТФ, Рибулез-1,5-дифосфат; г) О₂, НАДФН+Н⁺, АТФ.

17 Реакционным центром фотосистемы I является:

- а) мономерная форма хлорофилла a_{695} ;
- б) железо-серные белки;
- в) димер хлорофилла a с максимумом поглощения 700 нм;
- г) димер хлорофилла a с максимумом поглощения 680 нм.

18 Комплекс фотосистемы I под действием света выполняет:

- а) восстановление 1,3-дифосфоглицериновой кислоты до 3-ФГА;
- б) регенерацию рибулез-1,5-дифосфата;
- в) восстанавливает ферредоксин и окисляет пластоцианин;
- г) восстанавливает пластохинон и окисляет воду с выделением О₂ и протонов.

19 Поглощение квантов света пигментами, их переход в возбужденное состояние и передача энергии к другим молекулам фотосистемы происходит:

- а) в фотохимической фазе; б) в фотофизической фазе;
- в) в биохимической фазе; г) в темновой фазе.

20 Укажите схему, которая соответствует нециклическому транспорту электронов в ЭТЦ фотосинтеза:

- а) $P_{700} \rightarrow P_{700}^* \rightarrow A_0 \rightarrow A_1 \rightarrow F_x \rightarrow F_A/F_B \rightarrow \Phi Д \rightarrow \Phi НР \rightarrow НАДФ^+$;
- б) $P_{700} \rightarrow P_{700}^* \rightarrow A_0 \rightarrow A_1 \rightarrow F_x \rightarrow F_A/F_B$;
- в) $P_{680} \rightarrow P_{680}^* \rightarrow \Phi ф \rightarrow PQ \rightarrow Fe_2S_2 \rightarrow \text{Цит } b_6 \rightarrow \text{Цит } f \rightarrow \text{Пц} \rightarrow P_{700} \rightarrow P_{700}^* \rightarrow A_1 \rightarrow \Phi Д \rightarrow НАДФ^+$;
- г) $P_{700} \rightarrow P_{700}^* \rightarrow A_1 \rightarrow \Phi Д \rightarrow PQ \rightarrow Fe_2S_2 \rightarrow \text{Цит } b_6 \rightarrow \text{Цит } f \rightarrow \text{Пц} \rightarrow P_{700}$.

21 Суммарное количество энергии, запасенное в световой стадии фотосинтеза в форме АТФ и НАДФН, называется:

- а) ассимиляционная сила; б) фотосинтетический коэффициент;
- в) фотосинтетический потенциал; г) дыхательный коэффициент.

22 Фотолиз воды сопровождается:

- а) образованием углеводов;
- б) синтезом НАДФН;
- в) образованием кислорода;
- г) синтезом АТФ.

23 Оптические свойства молекулы хлорофилла определяют:

- а) углеводные группы порфиринового ядра;
- б) циклопентановое кольцо;
- в) система конъюгированных двойных связей;
- г) центральный атом магния.

24 Какие продукты фотохимической фазы фотосинтеза используются в биохимической фазе:

- а) АТФ и O_2 ;
- б) АТФ и НАДФН;
- в) НАДФН и O_2 ;
- г) АДФ и ФН.

25 Соединение, образующееся при циклическом транспорте электронов:

- а) ГТФ;
- б) НАДФН;
- в) ЦТФ;
- г) АТФ.

26 Конечные продукты реакций фотохимической фазы фотосинтеза:

- а) АТФ, вода и кислород;
- б) НАДФН, вода и кислород;
- в) АТФ, НАДФН и кислород;
- г) глюкоза, кислород и НАДФН.

27 Перенос энергии квантов света при фотосинтезе осуществляют:

- а) светособиравшие антенные пигменты;
- б) реакционные центры;
- в) звенья электрон-транспортной цепи;
- г) отдельные электроны.

28 Исходными веществами для реакций фотохимической фазы фотосинтеза являются:

- а) вода, хлорофилл, НАДФ⁺, АТФ;
- б) вода, углекислый газ, АДФ и неорганический фосфат;
- в) хлорофилл, вода, НАДФ, АДФ и неорганический фосфат;
- г) хлорофилл, вода, углекислый газ, АДФ и неорганический фосфат.

29 Фотосистема I имеет максимум поглощения света в области:

- а) 550 нм;
- б) 620 нм;
- в) 680 нм;
- г) 700–720 нм.

30 Совокупность фотосинтетической единицы и ферментов, обеспечивающих транспорт электронов, называется:

- а) иницирующей системой; б) терминирующей системой;
- в) фотосистемами; г) иницирующей и терминирующей системами.

31 Принципиальным отличием в организации прокариотической клетки от эукариотической является:

- а) отсутствие внутриклеточных мембран; б) отсутствие рибосом;
- в) отсутствие внутриплазматических включений; г) наличие клеточной стенки.

32 Основные функции цитоплазматической мембраны:

- а) придает определенную форму бактериям;
- б) осуществляет транспорт питательных веществ в клетку;
- в) защищает клетку;
- г) не содержит дыхательные цепи.

33 В нуклеоиде микробной клетки находится:

- а) РНК; б) ДНК; в) муреин; г) пигменты фотосинтеза.

34 Метаболизм бактерий состоит из процессов:

- а) конъюгации и трансляции;
- б) энергетического и конструктивного;
- в) транскрипции и трансляции;
- г) репликации и трансдукции.

35 Какую форму имеют спирохеты:

- а) шаровидную; б) нитевидную; в) палочковидную; г) извитую.

36 Как называются кокки, располагающиеся в виде гроздьев винограда:

- а) стрептококки; б) стафилококки; в) бациллы; г) вибрионы.

37 Морфологические особенности бацилл:

- а) наличие спор; б) оформленное ядро;
- в) сократимость протоплазмы; г) палочковидная форма клеток.

38 Сапрофиты:

- а) содержат только ДНК;
- б) патогенны для человека;
- в) утилизируют органические остатки умерших организмов;
- г) факультативные паразиты.

39 К почвенным микроорганизмам не относятся:

- а) бактерии; б) корни растений; в) водоросли; г) микроскопические грибы.

40 Живущие при низких рН микроорганизмы:

- а) термофилы; б) психрофилы; в) ацидофилы; г) алкалофилы.

41 Формой межвидовых отношений, при которой одна популяция, нанося вред другой, извлекает для себя пользу, называется:

- а) мутуализм; б) антагонизм; в) паразитизм; г) нейтрализм.

42 Симбиоз это:

- а) взаимовыгодное существование;
- б) сожительство патогенных микроорганизмов;
- в) подавление жизнедеятельности одной популяции другой;
- г) одна популяция усиливает жизнедеятельность другой популяции.

43 Анаэробы:

- а) для роста требуют кислород;
- б) растут на простых питательных средах;
- в) для роста требуют глюкозу;
- г) не растут в присутствии кислорода.

44 Использование энергии солнечного света характерно для:

- а) гетеротрофов; б) фототрофов; в) хемотрофов; г) мегатрофов.

45 Хемотрофы:

- а) способны использовать солнечную энергию;
- б) получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций;
- в) являются кислотоустойчивыми;
- г) делятся продольным делением.

46 Подготовка запасных питательных веществ к их окислению состоит в:

а) полимеризации; б) изомеризации; в) транспорте; г) гидролизе.

47 Анаэробным процессом дыхания является:

а) гликолиз; б) фотодыхание; в) фотоокисление; г) цикл трикарбоновых кислот.

48 Укажите функции оксигеназ в дыхании растений:

а) активируют кислород, в результате чего он может присоединяться к органическим соединениям;

б) переносят водород (электроны) только на кислород;

в) переносят водород (электроны) на какой-либо акцептор водорода (электронов), но не на кислород;

г) переносят водород (электроны) на различные промежуточные акцепторы или непосредственно на молекулярный кислород.

49 Функции оксидаз в дыхании растений:

а) активируют кислород, в результате чего он может присоединяться к органическим соединениям;

б) переносят водород (электроны) только на кислород;

в) переносят водород (электроны) на какой-либо акцептор водорода (электронов), но не на кислород;

г) переносят водород (электроны) на различные промежуточные акцепторы или непосредственно на молекулярный кислород.

50 В простетическую группу полифенолоксидазы входит:

а) медь; б) молибден; в) железо; г) марганец.

51 Глиоксилатный цикл осуществляется:

а) в цитозоле; б) в пероксисомах; в) в глиоксисомах; г) в митохондриях.

52 Пентозофосфатный цикл является:

а) источником аминокислот; б) путем окисления жиров;

в) источником разнообразных моносахаридов; г) одним из видов брожения.

53 Сущность генетической связи дыхания и брожения:

- а) этиловый спирт, который образуется при брожении, есть промежуточный продукт дыхания;
- б) дыхание и брожение до образования пировиноградной кислоты проходят одинаково;
- в) для прохождения обоих процессов необходим кислород;
- г) оба процесса идут без доступа O_2 .

54 Энергетический выход гликолиза равен:

- а) 8 молекул АТФ; б) 38 молекул АТФ; в) 36 молекул АТФ;
- г) 30 молекул АТФ.

55 При фотосинтезе и клеточном дыхании через фермент АТФ-азу проходит ион, придающий этому ферменту способность синтезировать АТФ. Назовите этот ион:

- а) Na^+ ; б) Ca^{2+} ; в) K^+ ; г) H^+ .

56 Сколько молекул CO_2 выделяется в цикле Кребса при расщеплении одной молекулы пировиноградной кислоты?

- а) одна; б) две; в) три; г) четыре.

57 Роль анаэробных дегидрогеназ в процессе дыхания:

- а) передают электроны только кислороду;
- б) передают электроны промежуточным акцепторам, но не кислороду;
- в) присоединяют кислород;
- г) осуществляют альтернативное дыхание.

58 Укажите утверждение, справедливое относительно аэробных дегидрогеназ растительной клетки:

- а) коферментом может быть НАД⁺ и НАДФ⁺;
- б) коферментом может быть ФМН и ФАД;
- в) содержат железо-порфириновую простетическую группу;
- г) содержат железо-серную простетическую группу.

59 Важнейшей функцией глиоксилатного цикла является:

- а) утилизация ацетил-КоА; б) образование моносахаридов;
- в) связь гликолиза и аэробного дыхания; г) образование АТФ.

60 Цикл Кребса является:

- а) источником полисахаридов для метаболизма;
- б) источником жиров для метаболизма;
- в) общим путем конечного окисления углеводов, жиров и белков;
- г) источником аминокислот.

Таблица правильных ответов

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
а	г	б	в	б	а	в	б	г	в	г	в	г	г	г
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
г	в	в	б	в	а	в	в	б	г	в	а	в	г	в
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
а	б	б	б	г	б	г	в	б	в	в	а	г	б	б
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
г	а	а	б	а	в	в	б	а	г	в	б	б	а	в

Литература

- 1 Физиология растений: учебник для вузов по направлению «Лесное дело» / А. В. Веретенников. – М., 2006. – 479 с.
- 2 Пильщикова, Н.В. Физиология растений с основами микробиологии / Н.В. Пильщикова. – М.: Мир, 2004. – 184 с.
- 3 Физиология растений: учеб. пособие / В. М. Юрин. – Мн., 2010. – 455 с.
- 4 Физиология растений: учебник / Вл. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. – М., 2006. – 742 с.
- 5 Физиология растений: учебник / под ред. И. П. Ермакова. – М., 2005. – 640 с.
- 6 Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений: учебник / под ред. Н. Н. Третьякова. – М., 2005. – 655 с.
- 7 Полевой, В.В. Физиология растений / В.В. Полевой. – М.: Высшая школа, 2006. - 464 с.
- 8 Физиология древесных растений / П. Д. Крамер, Т. Т. Козловский. – М.: Лесн. пром-сть, 1983. – 464 с.
- 9 Физиология растений: учеб. пособие / Н. И. Якушкина. – М., 2005. – 464 с.
- 10 Физиология растений: учебник / С. С. Медведев. – СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. – 336 с.
- 11 Физиология древесных растений / Х. Лир, Г. Польстер, Г.И. Фидлер. – М.: Лесн. пром-сть, 1983. – 424 с.
- 12 Рейва П. Современная ботаника: В 2-х т. , П. Рейва, Р. Эверт, С. Айкхорв. – Т. 2. – М.: Мир, 1990. – 344 е.
- 13 Лотова, Л. И. Морфология и анатомия высших растений / Л. И. Лотова. – М.: Эдиториал УРСС, 2001. – 528 с.
- 14 Ботаника: Морфология и анатомия растений / Васильев А.Е. [и др.]. – М.: Просвещение», 1988. – 480 с.
- 15 Кретович, В.В. Биохимия растений. – М.: Высш. школа, 1980. – 445 с.
- 16 Рогожин, В.В. Биохимия растений: Учебник / В.В. Рогожин. - СПб.: ГИОРД, 2012. - 432 с.
- 17 Хельд, Б. Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.
- 18 Плешков, Б.П. Биохимия сельскохозяйственных растений / Б.П. Плешков. – М.: Агропромиздат, 2007. - 494 с.

19 Гэлстон, А. Жизнь зеленого растения/ А. Гэлстон, П. Девис, Р. Сэттер. – М.: Мир, 1983. – 552 с.

20 Емцев В.Т. Микробиология: Учебник для вузов / Емцев В.Т Мишустин Е.Н. – 5-е изд.; перераб. и доп. - М.Дрофа.2008. – 448 с.

21 Белясова, Н.А. Микробиология: Учебник / Н.А. Белясова. - Мн.: Вышэйшая шк., 2012. - 443 с.

22 Нетрусов, А.И. Микробиология. Университетский курс: Учебник для студентов учреждений высшего профессионального образования / А.И. Нетрусов, И.Б. Котова. - М.: ИЦ Академия, 2012. - 384 с.

23 Крючков, В. А. Практикум по физиологии древесных растений: учебное пособие / В. А. Крючков, И. К. Булатова. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2006. – 248 с.

24 Викторов, Д.П. Малый практикум по физиологии растений: учебное пособие для биол. спец. вузов / Д.П. Викторов. – М.:Высшая школа, 1983. – 135 с.

25 Иванов, В.Б. Практикум по физиологии растений: учебное пособие для студ. высших пед. учеб. заведений / В.Б. Иванов, И.В. Плотникова, Е.А. Живухина и др.; под ред. В.Б. Иванова. – М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 144 с.

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

27 Практикум по физиологии растений / под ред. Н.Н. Третьякова. – М.: Колос, 1982. – 271 с.

Учебное издание

Храмченкова Ольга Михайловна

**ПРАКТИКУМ ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ
С ОСНОВАМИ МИКРОБИОЛОГИИ**

Часть 2

Практическое пособие
для студентов специальности 1 – 75 01 01
«Лесное хозяйство»