

Учреждение образования  
«Гомельский государственный университет  
имени Франциска Скорины»

**О. М. ХРАМЧЕНКОВА**

**ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ:  
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

Практическое пособие

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

Гомель  
ГГУ им. Ф. Скорины  
2023

УДК 581.1(076)  
ББК 28.57я73  
Х898

Рецензенты:

кандидат биологических наук Д. Н. Дроздов,  
кандидат биологических наук О. Л. Федосенко

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

**Храмченкова, О. М.**

Х898 Физиология растений: физиолого-биохимические аспекты :  
практическое пособие / О. М. Храмченкова ; Гомельский гос. ун-т  
им. Ф. Скорины. – Гомель : ГГУ им. Ф. Скорины, 2023. – 43 с.  
ISBN 978-985-577-940-8

В пособии представлен перечень лабораторных работ по дисциплине  
«Физиология растений» по следующим разделам: «Фотосинтез», «Дыхание  
растений», «Физиология фитостресса». Лабораторные занятия нацелены на  
приобретение навыков лабораторного изучения основных процессов жизне-  
деятельности растительного организма. Для закрепления учебного материа-  
ла приводится перечень тестовых заданий по курсу, а также список реко-  
мендуемой литературы.

Адресовано преподавателям и студентам очной и заочной форм обу-  
чения специальности 1-31 01 01-02 «Биология (научно-педагогическая дея-  
тельность)».

УДК 581.1(076)  
ББК 28.57я73

**ISBN 978-985-577-940-8**

© Храмченкова О. М., 2023  
© Учреждение образования  
«Гомельский государственный университет  
имени Франциска Скорины», 2023

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	5
Правила техники безопасности при выполнении лабораторных работ.....	6
Требования к ведению лабораторного дневника и оформлению лабораторных работ.....	7
Тема 1. Пигментные системы фотосинтетического аппарата.....	9
1.1 Лабораторная работа 1. Получение спиртового раствора пигментов фотосинтеза.....	9
1.2 Лабораторная работа 2. Изучение химических свойств пигментов фотосинтеза.....	10
1.3 Лабораторная работа 3. Спектральные свойства спиртового раствора пигментов фотосинтеза.....	12
Тема 2. Фотофизическая и фотохимическая стадии фотосинтеза	14
2.1 Лабораторная работа 4. Фотосенсибилизирующее действие хлорофилла на реакцию переноса водорода (по А. А. Гуревичу)	14
2.2 Лабораторная работа 5. Наблюдение флуоресценции хлорофилла.....	16
2.3 Лабораторная работа 6. Определение концентрации хлорофиллов в ацетоновом и спиртовом растворах.....	17
Тема 3. Зависимость фотосинтеза от внутренних и внешних факторов.....	19
3.1 Лабораторная работа 7. Обнаружение фотосинтеза методом крахмальной пробы (по Ю. Саксу).....	19
3.2 Лабораторная работа 8. Определение площади листьев.....	19
3.3 Лабораторная работа 9. Определение концентрации пигментов фотосинтеза в сухих и влажных слоевищах лишайников.....	21
Тема 4. Общие закономерности дыхания растений.....	23
4.1 Лабораторная работа 10. Сравнение величины дыхательных коэффициентов семян различных видов растений (демонстрационный опыт).....	23
4.2 Лабораторная работа 11. Определение интенсивности дыхания семян в закрытом сердце (по Бойсен-Иенсену).....	24
Тема 5. Ферменты дыхания .....	27
5.1 Лабораторная работа 12. Обнаружение дегидрогеназ в семенах фасоли.....	27
5.2 Лабораторная работа 13. Определение активности каталазы в растительных объектах.....	28

Тема 6. Стресс и его регуляция у растений.....	30
6.1 Лабораторная работа 14. Действие криопротекторов на жизнеспособность клеток растительных тканей при замораживании	30
6.2 Лабораторная работа 15. Определение устойчивости тканей листьев растений к высоким температурам.....	31
Тестовые задания.....	33
Литература.....	43

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

## ВВЕДЕНИЕ

Физиология растений изучает общие закономерности жизнедеятельности растительных организмов. Цель дисциплины «Физиология растений» – раскрыть сущность этих процессов, показать пути их регуляции и управления. Физиология растений занимается процессами, происходящими на разных уровнях организации: молекулярном, субклеточном, клеточном, тканевом, органном, организменном и биоценоотическом.

Курс «Физиология растений» предполагает формирование у студентов общенаучных, профессиональных и инструментальных компетенций.

Необходимо детально изучить все составляющие жизненного процесса, выделить роль каждого из них в общем ходе развития растительного организма. Следует как можно глубже проанализировать эти процессы и изучить те физические и химические явления, которые лежат в основе каждого из них.

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

В настоящем практическом пособии представлен перечень лабораторных работ по таким разделам дисциплины «Физиология растений», как «Фотосинтез», «Дыхание растений», а также «Физиология фитостресса». Лабораторные занятия нацелены на приобретение навыков лабораторного изучения основных процессов жизнедеятельности растительного организма. Они служат для закрепления и расширения знаний студентов по теоретическому курсу.

## ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

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

2. Выполнять лабораторные работы 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 и накладывать 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 волизи пламени.

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

## **ТРЕБОВАНИЯ К ВЕДЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОГО ДНЕВНИКА И ОФОРМЛЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ**

Для выполнения лабораторных работ 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.

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 либо тест, либо контрольную работу по теоретическому материалу изучаемого раздела дисциплины.

Издание 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 подписаны. Обязательно должны быть обозначены объекты исследования, варианты опыта, единицы измерения, название осей координат – на графиках.

Анализ 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.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ



# ТЕМА 1

## ПИГМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ

### ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

#### 1.1 Лабораторная работа 1. Получение спиртового раствора пигментов фотосинтеза

Пигментная система хлоропласта высших растений представлена двумя типами пигментов: хлорофиллами и каротиноидами. Основной функциональный пигмент хлорофилл *a* обнаружен у всех фотосинтезирующих организмов за исключением бактерий. У большинства наземных высших растений содержание хлорофилла *a* в 2,5–3,5 раза выше, чем содержание хлорофилла *b*. По химической природе хлорофиллы – сложные эфиры дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов – метанола и фитола. *Каротиноиды* – это полиеновые углеводороды красного, желтого и оранжевого цветов. Каротиноиды содержат 40 атомов углерода и представляют собой цепи, обладающие сопряженными двойными связями. Каротиноиды присутствуют в хлоропластах всех растений.

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

*Материалы и оборудование:* весы технические, ножницы, ступка с пестиком, пробирки (6 шт.), воронка, фильтр, мерный цилиндр на 10 мл, этанол – 25 мл на одну пару студентов,  $\text{CaCO}_3$ , песок.

*Растения:* зеленые листья любых растений.

**Ход работы:**

Навеску листьев 0,5–1 г измельчить ножницами, перенести в фарфоровую ступку, прибавить на кончике шпателя  $\text{CaCO}_3$  (для нейтрализации кислот клеточного сока), небольшое количество кварцевого песка (для лучшего растирания) и 1–2 мл спирта. Все это тщательно и быстро растереть в ступке, постепенно добавляя (после получения гомогенной массы) спирт несколькими порциями (в целом 10–15 мл).

Гомогенат вместе с осадком отфильтровать в пробирку через складчатый фильтр. После окончания фильтрования пестик и стенки ступки обмыть спиртом (3–5 мл) и профильтровать. Прозрачный раствор пигментов фотосинтеза использовать для выполнения лабораторных работ 2 (15 мл) и 3 (5 мл).

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

## 1.2 Лабораторная работа 2. Изучение химических свойств пигментов фотосинтеза

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

*Материалы и оборудование:* спиртовой раствор пигментов фотосинтеза; гексан; NaOH или KOH кристаллический; 10 % соляная кислота в капельнице; уксуснокислая медь или цинк; спиртовка; штатив с пробирками; воронки; фильтровальная бумага; стеклянные палочки.

### 1.2.1 Разделение пигментов по Краусу

Метод основан на различной растворимости пигментов в спирте и гексане. Эти растворители при сливании не смешиваются, а образуют две фазы: верхнюю гексановую и нижнюю спиртовую, благодаря чему и разделяются компоненты смеси пигментов.

#### **Ход работы:**

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

По мере расслоения эмульсии верхний гексановый слой будет окрашиваться в зеленый цвет, из-за лучшей растворимости в нем хлорофиллов. Кроме того, в гексан переходит каротин, но его окраска маскируется хлорофиллом. Ксантофилл остается в нижнем спиртовом слое, придавая ему золотисто-желтую окраску.

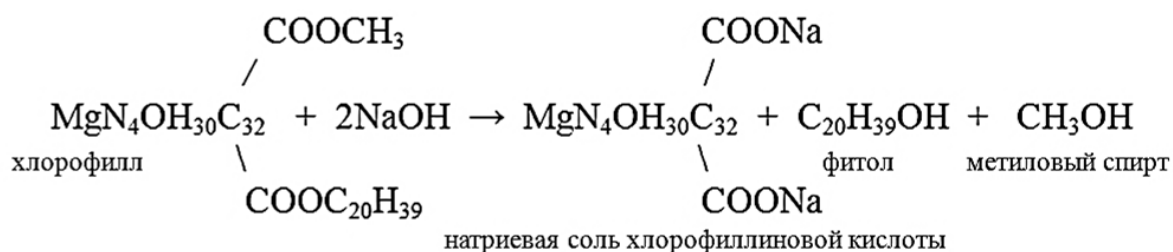
Если пигменты разделяются недостаточно четко, то следует добавить 1–2 капли воды и снова встряхнуть. При избытке воды возможно помутнение нижнего слоя, тогда следует прилить немного этилового спирта и взболтать содержимое пробирки.

*Задание:* описать ход работы. Зарисовать распределение пигментов в спирте и гексане, сделать выводы о различной их растворимости.

### 1.2.2 Омыление хлорофилла щелочью

При обработке хлорофилла щелочью происходит омыление эфирных групп, т. е. отщепление остатков метилового спирта и фитола и образование соли хлорофиллиновой кислоты.

Образующаяся натриевая соль хлорофиллиновой кислоты сохраняет зеленую окраску и оптические свойства хлорофилла, но отличается большей гидрофильностью по сравнению с неизменным пигментом.



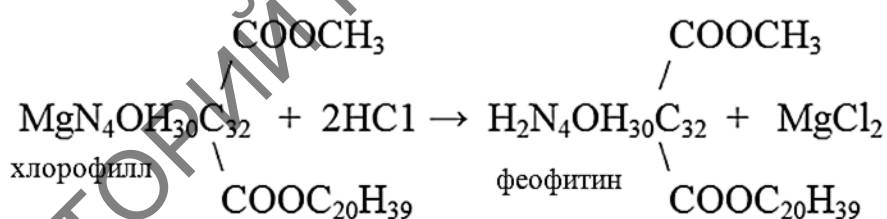
### Ход работы:

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

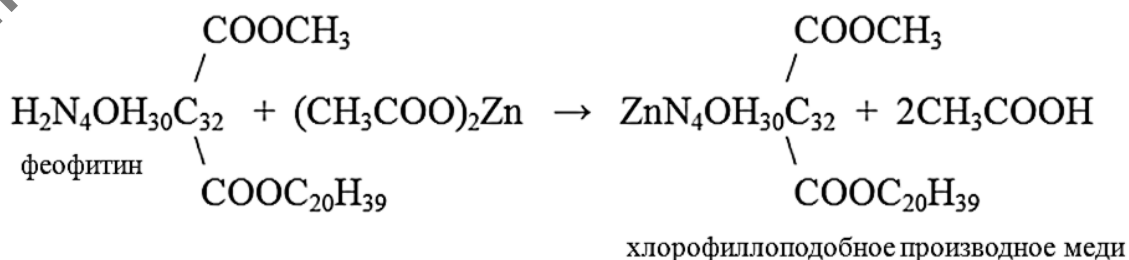
*Задание:* описать ход работы. Зарисовать окраску слоев, указав распределение пигментов, записать уравнение реакции омыления хлорофилла щелочью.

### 1.2.3 Получение феофитина и обратное замещение водорода атомом металла

Атом магния слабо удерживается в порфириновом ядре хлорофилла и при осторожном воздействии сильных кислот легко замещается двумя протонами, что приводит к образованию феофитина – вещества бурого цвета.



Если на феофитин подействовать солями меди, цинка или ртути, то вместо двух протонов в порфириновое ядро входит соответствующий ион металла и вновь восстанавливается зеленая окраска.



Однако она несколько отличается от окраски хлорофилла. Следовательно, цвет хлорофиллов зависит от металлоорганической связи в их молекуле. Обратное введение магния в феофитин происходит с большим трудом.

**Ход работы:**

В пробирку налить 2–3 мл спиртового раствора пигментов и прибавить 1–2 капли 10 % раствора соляной кислоты. В ходе реакции зеленый цвет меняется на бурый, при этом хлорофилл превращается в феофитин. Содержимое пробирки разлить в две пробирки.

Одну пробирку с феофитином оставить для контроля, а во вторую поместить несколько кристаллов уксуснокислой меди и нагреть раствор на спиртовке до кипения. После нагревания бурый цвет раствора меняется на зеленый в результате образования хлорофиллоподобного производного меди.

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

### **1.3 Лабораторная работа 3. Спектральные свойства спиртового раствора пигментов фотосинтеза**

Участие различных пигментов в фотосинтезе обусловлено их избирательной способностью поглощать световую энергию определенной длины волны, которая необходима растению для образования органического вещества из воды и углекислого газа. Поглощение света пигментами является не сплошным, а избирательным. В этом можно убедиться, пропуская пучки света с различной длиной волны диапазона видимого спектра через раствор пигментов фотосинтеза. При помощи спектрофотометра можно измерить оптическую плотность растворов. Полученный спектр называется *спектром поглощения*.

*Цель работы:* ознакомиться со спектральными свойствами пигментов фотосинтеза.

*Материалы и оборудование:* весы технические, ножницы, ступка с пестиком, пробирка, воронка, фильтр, мерный цилиндр на 10 мл, 2 кюветы для спектрофотометрии, 85 % раствор ацетона (7 мл на одну пару студентов),  $\text{CaCO}_3$ , песок, спектрофотометр.

*Растения:* зеленые листья любых растений.

**Ход работы:**

Навеску листьев 0,5 г измельчить ножницами, перенести в фарфоровую ступку, прибавить на кончике шпателя  $\text{CaCO}_3$  (для нейтрали-

ции кислот клеточного сока), небольшое количество кварцевого песка (для лучшего растирания) и 1–2 мл 85 % раствора ацетона. Тщательно и быстро растереть в ступке, постепенно добавляя (после получения гомогенной массы) ацетон. Гомогенат вместе с осадком отфильтровать в пробирку через складчатый фильтр.

В полистирольные кюветы для спектрофотометрии налить спиртовой и ацетоновый растворы пигментов фотосинтеза. При помощи спектрофотометра измерить оптическую плотность растворов в диапазоне 380–740 нм с шагом в 5 нм. Растворами сравнения являются чистый этанол и 85 % раствора ацетона – по 10 мл на одну подгруппу.

Результаты измерения занести в таблицу 1.

Таблица 1 – Оптическая плотность растворов пигментов фотосинтеза

Раствор	Фиолетовый, 380–440 нм	Синий, 440–485 нм	Голубой, 485–500 нм	Зеленый, 500–565 нм	Желтый, 565–590 нм	Оранжевый, 590–625 нм	Красный, 625–740 нм
Спиртовой							
Ацетоновый							

*Задание:* описать ход работы. Определить, в каких частях спектра расположены максимумы поглощения растворов пигментов фотосинтеза.

## ТЕМА 2

# ФОТОФИЗИЧЕСКАЯ И ФОТОХИМИЧЕСКАЯ СТАДИИ ФОТОСИНТЕЗА

### 2.1 Лабораторная работа 4. Фотосенсибилизирующее действие хлорофилла на реакцию переноса водорода (по А. А. Гуревичу)

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

Схематично фотолиз воды можно представить следующим образом:



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

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

*Цель работы:* изучение фотосенсибилизирующего действия хлорофилла.

*Материалы и оборудование:* ножницы, ступка с пестиком, пробирки (4 шт.), воронка, фильтр, мерный цилиндр на 10 мл, этанол – 20 мл на одну пару студентов, СаСО<sub>3</sub>, песок, кристаллическая аскорбиновая кислота, метиловый красный 100 мл (0,02 г метилового красного растворить в 60 мл этанола, прилить 40 мл воды), электрическая лампа.

*Растения:* зеленые листья любых растений.

### Ход работы:

Навеску листьев 0,5 г измельчить ножницами, перенести в фарфоровую ступку, прибавить на кончике шпателя  $\text{CaCO}_3$  (для нейтрализации кислот клеточного сока), небольшое количество кварцевого песка (для лучшего растирания) и 1–2 мл спирта. Все это тщательно и быстро растереть в ступке, постепенно добавляя (после получения гомогенной массы) спирт несколькими порциями (в целом 10–15 мл).

Гомогенат вместе с осадком отфильтровать в пробирку через складчатый фильтр. После окончания фильтрования пестик и стенки ступки дважды обмыть спиртом (3–5 мл) и профильтровать. Прозрачный раствор пигментов фотосинтеза использовать для выполнения лабораторных работ 4 (15 мл), 5 (5 мл) и 6 (5 мл).

В штативе пронумеровать четыре пробирки. В первую, вторую и третью пробирки налить по 5 мл спиртового раствора пигментов, в четвертую – 5 мл этилового спирта. В первую, вторую и четвертую пробирки внести по 50 мг кристаллической аскорбиновой кислоты и несколько раз встряхнуть их. В первую, вторую и третью пробирки добить по каплям раствор метиленового красного до тех пор, пока зеленая окраска не перейдет в красно-бурую. В четвертой пробирке окраску раствора при помощи индикатора довести до ярко-розовой. Вторую пробирку закрыть чехлом из черной бумаги. Все пробирки в штативе на 15–20 мин поместить под электрическую лампу, расположив ее на расстоянии 5–10 см от штатива.

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

Результаты опыта записать в таблицу 2.

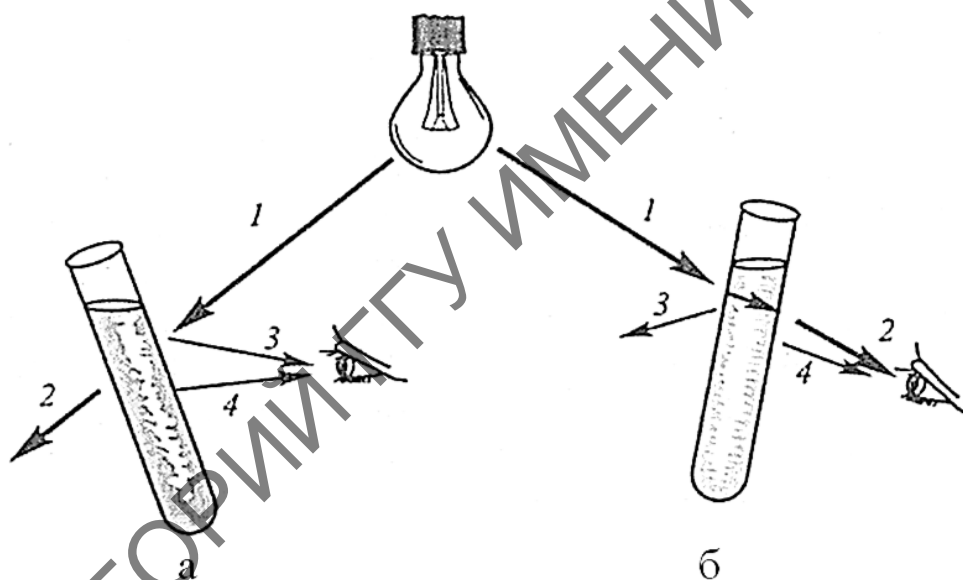
Таблица 2 – Определение фотосенсибилизирующего действия хлорофилла

Вариант	Состав смеси в пробирках				Условия	Результат
	спиртовой раствор пигментов	этанол	аскорбиновая кислота	метиловый красный		
1	+	–	+	+	свет	
2	+	–	+	+	темнота	
3	+	–	–	+	свет	
4	–		+	+	свет	

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

## 2.2 Лабораторная работа 5. Наблюдение флуоресценции хлорофилла

*Флуоресценция хлорофилла* – испускание возбужденной молекулой хлорофилла света с длиной волны, большей, чем длина волны света, возбудившего флуоресценцию. Флуоресценция обнаруживается по красному цвету раствора хлорофилла, рассматриваемого в отраженном свете на темном фоне. Возбуждающий флуоресценцию свет значительно интенсивнее света флуоресценции. Поэтому раствор хлорофиллов выглядит зеленым. В отраженном свете в глаз наблюдателя попадает значительно меньше возбуждающего флуоресценцию света, поэтому становится видна сама флуоресценция (рисунок 1).



1 – свет лампы, освещающий пробирку с раствором хлорофилла и возбуждающий его флуоресценцию; 2 – свет лампы, проходящий через пробирку с раствором хлорофилла; 3 – свет лампы, отраженный от пробирки; 4 – флуоресценция хлорофилла

Рисунок 1 – Спиртовой раствор пигментов фотосинтеза в отраженных (а) и проходящих лучах (б)

Независимо от длины волны возбуждающего света хлорофилл флуоресцирует только красным светом. В живом листе основным флу-



оресцирующим пигментом является хлорофилл *a*. При этом в листьях флуоресценция выражена гораздо слабее, чем в растворе, так как часть поглощенной энергии используется на сенсibilизирование фотохимических реакций. Поэтому возрастание интенсивности фотосинтеза, как правило, влечет за собой ослабление флуоресценции.

*Цель работы:* наблюдать флуоресценцию хлорофилла.

*Материалы и оборудование:* спиртовой раствор пигментов, электрическая лампа, штатив, пробирка.

**Ход работы:**

В пробирку налить 3–4 мл спиртового раствора пигментов. Рассмотреть раствор пигментов в пробирке в отраженном свете настольной лампы (рисунок 1). Отметить красную флуоресценцию спиртового раствора пигментов, который содержит все пигменты. Рассмотреть спиртовой раствор пигментов в проходящем свете, отметить ее зеленую окраску, обусловленную присутствием хлорофилла. В проходящем свете красная флуоресценция не видна, так как интенсивный проходящий свет маскирует ее.

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

### **2.3 Лабораторная работа 6. Определение концентрации хлорофиллов в ацетоновом и спиртовом растворах**

Спектрофотометрический анализ – наиболее точный количественный метод определения содержания пигментов фотосинтеза. Концентрация пигментов на спектрофотометре определяется по оптической плотности растворов. Плотность экстракта на спектрофотометре измеряют при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов *a* и *b* в красной области спектра.

*Цель работы:* определить концентрацию хлорофиллов *a* и *b* в ацетоновом и спиртовом растворах, рассчитать их соотношение.

*Материалы и оборудование:* спиртовой раствор пигментов, весы технические, ножницы, ступка с пестиком, пробирка, воронка, фильтр, мерный цилиндр на 10 мл, 2 кюветы для спектрофотометрии, 85 % раствор ацетона (7 мл на одну пару студентов), CaCO<sub>3</sub>, песок, спектрофотометр, 96 % этанол для спектрофотометрии – 10 мл на одну подгруппу.

*Растения:* зеленые листья любых растений.

### Ход работы:

Навеску листьев 0,5 г измельчить ножницами, перенести в фарфоровую ступку, прибавить на кончике шпателя  $\text{CaCO}_3$  (для нейтрализации кислот клеточного сока), небольшое количество кварцевого песка (для лучшего растирания) и 1–2 мл 85 % раствора ацетона. Тщательно и быстро растереть в ступке, постепенно добавляя (после получения гомогенной массы) ацетон. Гомогенат вместе с осадком отфильтровать в пробирку через складчатый фильтр.

В полистирольные кюветы для спектрофотометрии налить спиртовой и ацетоновый растворы пигментов фотосинтеза.

Прогреть спектрофотометр, наполнить раствором кювету. Произвести измерение оптической плотности растворов пигментов: при 649 нм и 665 нм – спиртовой; при 644 нм и 663 нм – ацетоновый.

Рассчитать концентрацию хлорофиллов  $a$  и  $b$  по формулам:

для 96 % раствора этанола:

$$C \text{ хл } a = 25,8 \cdot D_{649} - 7,60 \cdot D_{665}$$

$$C \text{ хл } b = 13,7 \cdot D_{665} - 5,76 \cdot D_{649}$$

для 85 % раствора ацетона:

$$C \text{ хл } a = 10,3 \cdot D_{663} - 0,918 \cdot D_{644}$$

$$C \text{ хл } b = 19,7 \cdot D_{644} - 3,87 \cdot D_{663}$$

где  $C \text{ хл } a$  и  $C \text{ хл } b$  – соответственно – концентрации хлорофиллов  $a$  и  $b$ , мг/л;

$D$  – определенные на спектрофотометре величины оптической плотности растворов при соответствующих длинах волн.

Для каждого случая вычислить отношение концентраций  $\text{хл } a/\text{хл } b$ .

Результаты занести в таблицу 3.

Таблица 3 – Определение концентрации хлорофиллов в ацетоновом и спиртовом растворах

Раствор	Концентрация хлорофиллов, мг/л		Отношение концентраций $\text{хл } a/\text{хл } b$
	$\text{хл } a$	$\text{хл } b$	
Спиртовой			
Ацетоновый			

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

## ТЕМА 3

# ЗАВИСИМОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА ОТ ВНУТРЕННИХ И ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ

### 3.1 Лабораторная работа 7. Обнаружение фотосинтеза методом крахмальной пробы (по Ю. Саксу)

Видимым продуктом фотосинтеза у высших растений является крахмал, который накапливается в виде зерен в хлоропластах листа. Перед опытом растения выдерживают 1–2 дня в темноте.

*Цель работы:* освоение методики демонстрационного опыта «крахмальная проба».

*Материалы и оборудование:* цветная бумага, ножницы, скрепки, электроплитка, химический стакан на 600 мл, водяная баня, чашка Петри, этанол – 250 мл на подгруппу, раствор Люголя.

*Растения:* невысокие экземпляры пеларгонии в горшках.

#### **Ход работы:**

Листья на выдержанных в темноте растениях с обеих сторон покрыть полосками цветной бумаги с вырезанными в ней различными фигурами, скрепляя их скрепками, выставить растения на свет на 1 ч.

По окончании экспозиции бумагу убирать, листья срезать, поместить на несколько минут в кипящую воду, затем перенести в стакан со спиртом, выдержать на горячей бане до обесцвечивания тканей листа. Листья промыть водой, разложить в чашках Петри и залить раствором Люголя. Отметить окраску разных зон листа.

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

### 3.2 Лабораторная работа 8. Определение площади листьев

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

#### **3.2.1 Метод отпечатков**

*Цель работы:* определить площадь листьев разных видов растений.

*Материалы и оборудование:* тетрадная бумага, ножницы, весы технические.

*Растения:* листья пеларгонии, гибискуса, традесканции. Можно использовать листья древесных и травянистых растений.

**Ход работы:**

Лист растения наложить на тетрадную бумагу, обвести контур остро отточенным карандашом, получить отпечаток листа. Вырезать бумагу по контуру листовой пластинки, взвесить. Одновременно из такой же бумаги вырезать квадрат площадью  $100 \text{ см}^2$  ( $10 \times 10 \text{ см}$ ), и взвесить. Площадь исследуемого листа рассчитать по формуле

$$S = \frac{a \cdot c}{b},$$

где  $a$  – масса контура листа, г;

$b$  – масса квадрата бумаги, г;

$c$  – площадь квадрата бумаги,  $\text{см}^2$ .

Данный метод прост и достаточно точен, но малопроизводителен. Кроме того, его практически нельзя использовать при исследовании гофрированных и сложных листьев.

*Задание:* описать ход работы, сравнить площадь листьев разных видов растений.

### 3.2.2 Метод высечек

*Цель работы:* определить площадь листьев разных видов растений.

*Материалы и оборудование:* ножницы, весы технические, сверла.

*Растения:* листья пеларгонии, гибискуса, традесканции.

**Ход работы:**

С растений быстро срезать листья и взвесить. Затем из каждого листа пробочным сверлом определенного диаметра выбрать несколько высечек, объединить их и взвесить. Площадь исследуемого листа рассчитать по формуле

$$S = \frac{a \cdot c}{b},$$

где  $a$  – общая масса сырых листьев, г;

$b$  – общая масса сырых высечек, г;

$c$  – площадь квадрата бумаги, общая площадь высечек,  $\text{см}^2$ .

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

### 3.3 Лабораторная работа 9. Определение концентрации пигментов фотосинтеза в сухих и влажных слоевищах лишайников

*Лишайники* – пойкилогидрические организмы. Интенсивность фотосинтеза лишайников определяется суммой воздействия факторов окружающей среды. Необходимым условием их жизнедеятельности является обеспеченность водой: содержание воды 60–80 % от абсолютно сухого веса лишайников является оптимальным для протекания фотосинтеза. Активация фотосинтеза у лишайников происходит при увлажнении талломов.

*Цель работы:* определить концентрацию пигментов фотосинтеза в сухих и увлажненных талломах лишайников, рассчитать их соотношение.

*Материалы и оборудование:* весы технические, ступка с пестиком, пробирка, воронка, фильтр, мерный цилиндр на 10 мл, чашка Петри, 2 кюветы для спектрофотометрии, 85 % раствор ацетона (20 мл на одну пару студентов), CaCO<sub>3</sub>, песок, спектрофотометр.

*Растения:* сухие слоевища листоватых или кустистых лишайников.

#### **Ход работы:**

Взвесить две навески сухого лишайника по 0,1 г. Одну навеску поместить в чашку Петри, прилить 5 мл воды, закрыть крышкой, оставить на 20–30 мин.

Другую навеску сухого лишайника 0,1 г поместить в фарфоровую ступку, прибавить на кончике шпателя CaCO<sub>3</sub>, небольшое количество кварцевого песка (для лучшего растирания) и 1–2 мл 85 % раствора ацетона. Тщательно и быстро растереть в ступке, постепенно добавляя (после получения однородной массы) ацетон – всего 10 мл на один образец. Гомогенат вместе с осадком отфильтровать в пробирку через складчатый фильтр.

В полистирольную кювету для спектрофотометрии налить ацетоновый раствор пигментов фотосинтеза сухого лишайника. Прогреть спектрофотометр, произвести измерение оптической плотности раствора пигментов при 452,5, 644 нм и 663 нм. Раствором сравнения является 85 % раствор ацетона.

Для расчета концентрации пигментов фотосинтеза использовать формулы Реббелена для 85 % ацетона:

$$C_{\text{хла}} = 10,3 \cdot D_{663} - 0,918 \cdot D_{644},$$

$$C_{\text{хлб}} = 19,7 \cdot D_{644} - 3,87 \cdot D_{663},$$

$$C_{\text{хл}(a+b)} = 6,4 \cdot D_{663} + 18,8 \cdot D_{644},$$
$$C_{\text{кар}} = 4,75 \cdot D_{452,5} - 0,226 \cdot C_{a+b},$$

где  $C$  – концентрация хлорофиллов  $a$ ,  $b$  и каротиноидов в мг/л;

$D$  – оптическая плотность раствора при 452,5, 644 нм и 663 нм.

Вынуть из чашки Петри увлажненный образец лишайника. Произвести аналогичное выделение пигментов фотосинтеза, измерение оптической плотности раствора и расчет концентрации пигментов.

*Задание:* рассчитать соотношения концентраций хл  $a$ /хл  $b$ , хл  $(a+b)$ /кар для сухих и влажных слоевищ лишайника, сделать вывод об оптимизации фотосинтеза лишайника после увлажнения таллома.

## ТЕМА 4

# ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ДЫХАНИЯ РАСТЕНИЙ

### 4.1 Лабораторная работа 10. Сравнение величины дыхательных коэффициентов семян различных видов растений (демонстрационный опыт)

Дыхательный коэффициент представляет собой отношение объема выделенного углекислого газа к объему поглощенного за это же время кислорода. При окислении углеводов дыхательный коэффициент равен 1, при окислении жиров и белков он меньше 1.

*Цель работы:* сравнить величины дыхательных коэффициентов проросших семян различных видов растений.

*Материалы и оборудование:* пробирки (3 шт.), штатив для пробирок, стакан высокий на 100 мл, резиновые пробки для пробирок с отверстиями, штатив для пробирок, водорастворимая краска или чернила.

*Растения:* проросшие семена подсолнечника и зерновых культур.

#### **Ход работы:**

Из пробирок, резиновых пробок со вставленными в них изогнутыми трубками и стакана собрать установку (рисунок 2). В стакан налить подкрашенную воду. Пробирки на  $\frac{1}{3}$  заполнить проросшими семенами: одну – семенами зерновой культуры, другую – подсолнечника. Обе пробирки плотно закрыть пробками с изогнутыми трубками, поставить в штатив и опустить длинные концы трубок в стакан с подкрашенной водой.

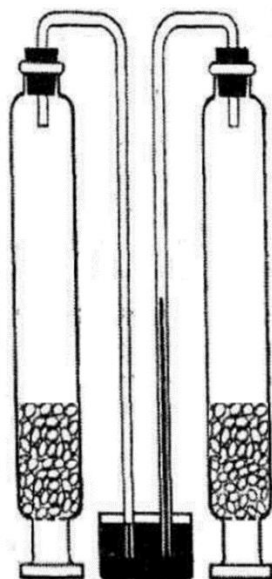


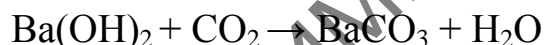
Рисунок 2 – Установка для выполнения демонстрационного опыта

Через 30–40 мин видно, что в пробирку с семенами подсолнечника по трубке засасывается из стакана подкрашенная вода. Очевидно, объем воздуха в пробирке уменьшился. В трубке, соединенной с пробиркой, в которой содержатся семена зерновой культуры, уровень подкрашенной воды не изменится. Это показывает, что в том случае, когда дыхание происходит за счет окисления жиров, объем поглощенного кислорода оказывается больше объема выделенного углекислого газа, а при дыхании за счет углеводов объемы этих газов одинаковы.

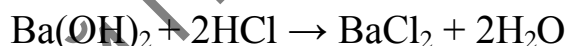
*Задание:* описать ход работы. Сделать вывод о величине дыхательного коэффициента семян изучаемых видов растений.

## 4.2 Лабораторная работа 11. Определение интенсивности дыхания семян в закрытом сосуде (по Бойсен-Иенсену)

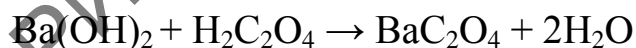
Метод заключается в учете количества  $\text{CO}_2$ , выделяемого семенами при дыхании. Процесс поглощения диоксида углерода баритом можно записать в виде следующего уравнения:



Избыток барита, не прореагировавшего с  $\text{CO}_2$ , оттитровывают раствором  $\text{HCl}$  или щавелевой кислоты:



или



*Цель работы:* доказать, что при дыхании растений выделяется  $\text{CO}_2$  и определить интенсивность дыхания у сухих и проросших семян разных растений.

*Материалы и оборудование:* конические колбы на 250 мл (3 шт.), бюретка на 25 мл для титрования и на 100 мл для дозирования раствора  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , штативы для бюреток, мерная пипетка на 20 мл, резиновые пробки, пробки с крючком для подвешивания образцов, марля, нитки, ножницы; 0,02 н раствор  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , 0,02 н раствор  $\text{HCl}$ , свежий 1 % раствор фенофталеина – 100 мл на все занятие (1 г на 100 мл этанола), лабораторные весы.

*Растения:* проросшие и сухие семена разных сельскохозяйственных культур.



### Ход работы:

Опыт ставится в конических колбах. Перед опытом все колбы держат открытыми в течение 15–20 мин.

В марлевые мешочки поместить 4–5 г семян. В колбы (рисунок 3) налить по 20 мл 0,02 н Ва(ОН)<sub>2</sub> (1) и закрыть колбы пробками. В опытные колбы, приоткрыв, быстро подвесить на крючок пробки мешочки с сухими и проросшими семенами (2). Одну колбу с раствором Ва(ОН)<sub>2</sub> оставить в качестве контроля. Выдержать все колбы 40 мин при комнатной температуре (20 °С). В течение опыта периодически осторожно покачивать колбы, чтобы разрушить пленку ВаСО<sub>3</sub>, образующуюся на поверхности барита и препятствующую полноте поглощения СО<sub>2</sub>.

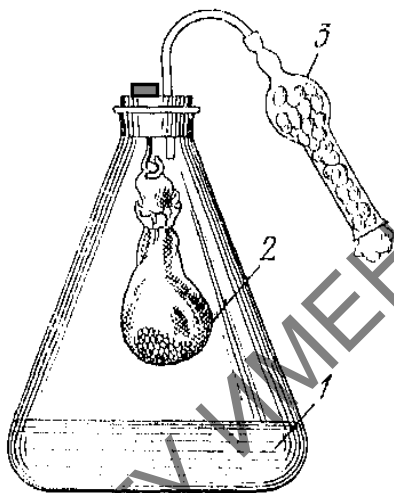


Рисунок 3 – Установка для определения интенсивности дыхания семян

Затем быстро вынуть из колбы мешочек с семенами, добавить три капли фенолфталеина и оттитровать избыток барита 0,02 н раствором НСl до слабо-розового окрашивания, исчезающего от одной капли кислоты. Так же оттитровать барит в контрольной колбе.

Интенсивность дыхания  $J$  (в мг СО<sub>2</sub>, выделяемого 1 г семян естественной влажности за 1 ч) рассчитать по формуле:

$$J = \frac{(a - b) \cdot 0,44 \cdot 60}{t \cdot n},$$

где  $a$  и  $b$  – количества 0,02 н соляной кислоты, израсходованной на титрование барита соответственно в контрольном и опытном вариантах, мл;

0,44 – количество СО<sub>2</sub>, мг, соответствующее 1 мл 0,02 н раствора соляной кислоты;

$n$  – масса семян, г;

$t$  – время экспозиции, мин;

60 – коэффициент пересчета на 1 ч.

Результаты опыта записать в таблицу 4.

Таблица 4 – Интенсивность дыхания семян

Объект	Навеска семян $n$ , г	Объем барита, мл	Объем 0,02 н НСl, пошедшей на титрование		$(a - b)$ , мл	Интенсивность дыхания мг CO <sub>2</sub> , выделяемого 1 г семян естественной влажности за 1 ч
			контроль $a$ , мл	опыт $b$ , мл		
Сухие семена						
Проросшие семена						

*Задание:* описать ход работы. Заполнить таблицу, сделать вывод об интенсивности дыхания сухих и проросших семян.

## ТЕМА 5 ФЕРМЕНТЫ ДЫХАНИЯ

### 5.1 Лабораторная работа 12. Обнаружение дегидрогеназ в семенах фасоли

*Дегидрогеназы* – это ферменты, активирующие и отщепляющие водород от окисляемого субстрата. Обнаружение дегидрогеназ основано на их способности передавать водород какому-нибудь акцептору, который, восстанавливаясь, меняет свою окраску. В качестве акцептора водорода может быть взята метиленовая синь, переходящая в восстановленном состоянии в бесцветную лейкоформу.

*Цель работы:* обнаружить присутствие дегидрогеназ в живых семенах фасоли.

*Материалы и оборудование:* 1 % раствор метиленовой сини, электроплитка, нагретая до 25–30 °С, водяная баня, пробирки – по 2 на стол, резиновые пробки для пробирок, химические стаканы.

*Растения:* набухшие суточные семена фасоли или подсолнечника.

#### **Ход работы:**

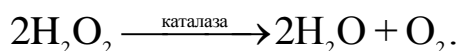
С набухших семян снять кожуру. Часть семян прокипятить в течение 10 мин (в химическом стакане на электроплитке). Затем по 3 шт. живых (опытных) и убитых (контрольных) семян поместить в две пронумерованные пробирки, залить 1 % раствором метиленовой сини, выдержать 20 мин. Через 20 мин раствор метиленовой сини из пробирок слить, семена промыть водопроводной водой. После промывания все семена должны иметь темно-синюю окраску. Окрашенные семена в пробирках залить водой, пробирки закрыть пробками и поставить на водяную баню с температурой 25–30 °С.

Через 1,5–2 ч можно заметить, что непрокипяченные семена теряют синюю окраску. Это происходит потому, что дегидрогеназы, участвующие в дыхании клеток, активировали и сняли водород с дыхательного материала, а затем передали его на метиленовую синь, которая восстановилась и обесцветилась. Если с обесцвеченных семян слить воду, то на воздухе они снова синеют, так как лейкоформа метиленовой сини окисляется. Семена в контрольной пробирке остаются синими, поскольку при кипячении дегидрогеназы разрушились.

*Задание:* описать схему опыта, зарисовать живые и мертвые семена, сделать вывод о работе дегидразы семян исследуемой культуры.

## 5.2 Лабораторная работа 13. Определение активности каталазы в растительных объектах

В процессе дыхания в качестве побочного продукта окисления веществ образуется пероксид водорода, оказывающий в высоких концентрациях токсичное действие на цитоплазму. Нейтрализация пероксида водорода при участии фермента каталазы идет до воды и молекулярного кислорода по уравнению:



Об активности каталазы судят по объему кислорода, выделяющегося в результате разложения пероксида водорода.

*Цель работы:* освоить методику определения активности каталазы в растительных тканях и определить активность каталазы в листьях комнатных растений.

*Материалы и оборудование:* промытый речной песок, порошок мела, 3 % раствор перекиси водорода, фарфоровая ступка с пестиком, пипетки на 5 мл, мерные цилиндры на 10 мл, прибор для определения активности каталазы, весы.

*Растения:* листья пеларгонии и гибискуса.

### **Ход работы:**

Перед началом работы следует ознакомиться с прибором для определения каталазной активности. Для определения объема кислорода, выделяющегося при разложении пероксида водорода, использовать установку (рисунок 4), которая состоит из каталазника (1), бюретки на 50 мл (5) и стеклянной грушевидной воронки (4), соединенных трубками и стеклянным тройником (2). Трубка на свободном конце тройника снабжена зажимом (3). Бюретка и грушевидная воронка закреплены в штативе. Их заполняют дистиллированной водой до половины объема. Навеску листьев 0,2 г растереть в фарфоровой ступке с кварцевым песком, добавить 0,2 г мела для создания щелочной реакции (рН 7,7 оптимальна для работы каталазы). Во время растирания влить небольшими порциями 10 мл воды, смесь внести в одно колено каталазника. В другое колено поместить 5 мл 3 % раствора перекиси водорода. Каталазник закрыть пробкой с трубкой, не допуская смешивания жидкостей.

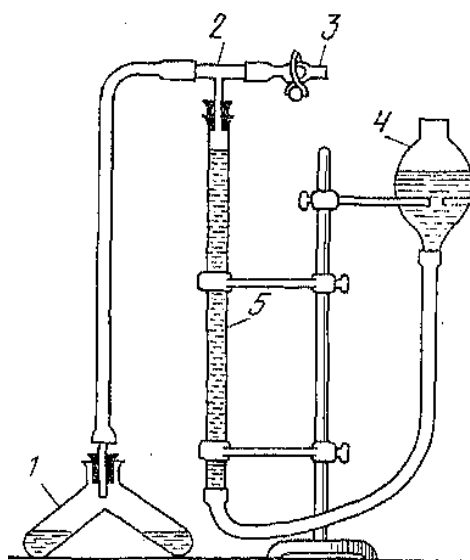


Рисунок 4 – Установка для определения активности каталазы

При открытом зажиме, то есть при атмосферном давлении, поднимая или опуская грушу, установить в бюретке уровень жидкости на нулевом делении. Закрыть зажим и быстрым изменением положения катализника смешать жидкость в обоих коленах. С этого момента начинают отсчет времени. Начнется выделение кислорода, который поступит в бюретку, и жидкость в ней опустится. Затем, все время встряхивая катализник, по снижению уровня воды в бюретке отметить объем кислорода (в мл), выделенного в течение 3 мин.

Результаты записать в таблицу 5.

Таблица 5 – Определение активности каталазы

Растительный объект	Навеска, г	Выделилось O <sub>2</sub> за 3 мин, мл	Активность каталазы, мл O <sub>2</sub> на 1 г сырого материала за 1 мин
Пеларгония зональная			
Гибискус китайский			
Традесканция виргинская			

**Задание:** описать ход работы. Заполнить таблицу, сделать вывод об активности каталазы в листьях испытуемых растений.

## ТЕМА 6

# СТРЕСС И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ У РАСТЕНИЙ

### 6.1 Лабораторная работа 14. 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:* кристаллизатор, скальпели, лезвия, термометр со шкалой до +50 °С, водяная баня, электроплитка, пробирки (7 шт.), штатив для пробирок, химические стаканы, линейки, поваренная соль, снег или кубики льда, 12 % раствор глицерина, 0,5М, 1М и 2М растворы сахарозы, мерный цилиндр на 10 мл.

*Растения:* корнеплоды свеклы.

**Ход работы:**

*Вариантами опыта являются результаты, полученные каждой парой студентов.* Корнеплод столовой свеклы очистить от кожуры, вырезать кусочки размером 5x5x5 мм – 35 шт. на одну пару студентов. Кусочки корнеплода поместить в химический стакан, тщательно промыть водопроводной водой, чтобы удалить клеточный сок, вытекающий из поврежденных клеток.

Отмытые кусочки корнеплода по 5 шт. помещают в 7 пробирок, в каждой из которых находится по 5 мл следующих жидкостей:

- 1) дистиллированная вода;
- 2) 2М раствор сахарозы;
- 3) 1М раствор сахарозы;

- 4) 12 % раствор глицерина;
- 5) 12 % раствор глицерина и 2М раствор сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл);
- 6) 12 % раствор глицерина и 1М раствор сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл);
- 7) 12 % раствор глицерина и 0,5М раствор сахарозы в соотношении 1:1 (по 2,5 мл).

Все пробирки поместить в охлаждающую смесь, состоящую из трех частей снега или льда и одной части сухой поваренной соли (температура  $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Пробирки выдержать в ней до полного замерзания содержимого.

После этого пробирки перенести в водяную баню с температурой  $25\text{--}30\text{ }^{\circ}\text{C}$  для размораживания. После оттаивания растворы тщательно перемешать, 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.

## **6.2 Лабораторная работа 15. 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:* нитки, плотная бумага для этикеток, ножницы, водяная баня, электроплитка, термометр, кристаллизаторы, листы белой бумаги, 0,2М раствор HCl.

*Растения:* листья комнатных растений – пеларгонии, гибискуса, традесканции.

### **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 листья – 40, 45, 50, 55 и 60 °С. Этикетки нитками привязать к черешкам листьев.

В водяной бане установить и поддерживать температуру 40 °С. В воду одновременно опустить листья растений, взятых для опыта. Первую пробу извлечь из бани через 20 мин, перенести в кристаллизатор с водой комнатной температуры. Затем температуру в бане поднять на 5 °С. Через 5 мин после этого извлечь вторую пробу листьев, их также перенести в кристаллизатор с водой. Постепенно температуру воды в бане довести до 60 °С, забирая пробы каждые 5 мин после увеличения температуры в бане на каждые 5 °С.

Затем листья извлечь из воды комнатной температуры и залить 0,2М 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, промыть водой, 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 и раскрасить поврежденные участки. Сделать выводы об устойчивости тканей листьев растений разных видов к высоким температурам.



## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Ответьте на вопросы, выбрав верный ответ.

1. Укажите происхождение кислорода, образующегося при фотосинтезе.

- а) продукт окисления первичных углеводов;
- б) продукт фоторазложения пероксида водорода;
- в) продукт фоторазложения углекислого газа;
- г) продукт фоторазложения воды;
- д) продукт окисления пигментов фотосинтеза.

2. Индексом листовой поверхности называют...

- а) площадь листьев ( $m^2$ ), приходящуюся на  $1 m^2$  почвы;
- б) суммарную площадь листьев растения;
- в) количество хлорофилла на  $1 m^2$  листьев;
- г) количество света, поглощаемого  $1 m^2$  листьев;
- д) количество листьев на растении.

3. К фотосинтетическим пигментам высших растений относят...

- а) хлорофиллы, антоцианы, каротины;
- б) каротины, ксантофиллы, хлорофиллы;
- в) антоцианы, фикобилины, каротиноиды;
- г) ксантофиллы, антоцианы, каротиноиды;
- д) ксантофиллы, фикобилины, каротиноиды.

4. В результате взаимодействия хлорофилла со щелочью образуются...

- а) хлорофиллиновая кислота, каротин и метанол;
- б) феофетин, метанол и вода;
- в) фитол, порфирин и вода;
- г) соль хлорофиллиновой кислоты, фитол и метанол;
- д) каротин, хлорофиллид и вода.

5. Фотофизическая фаза фотосинтеза не включает в себя...

- а) поглощение солнечной энергии пигментами;
- б) запасание энергии в виде энергии электронного возбуждения;
- в) миграцию энергии в реакционный центр;
- г) разделение зарядов в реакционном центре;
- д) темновую фиксацию  $CO_2$ .

6. ...молекулы хлорофилла образует хромофорную группу.

- а) циклопентановое кольцо;
- б) порфириновое ядро;
- в) остаток фитола;
- г) остаток метанола;
- д) атом магния.

7. Фотосинтетически активной радиацией называют...

- а) участок видимого спектра, поглощаемый пигментами хлоропластов;
- б) видимый спектр солнечного излучения;
- в) инфракрасное излучение;
- г) ближний ультрафиолет;
- д) коротковолновой ультрафиолет.

8. В результате взаимодействия хлорофилла с кислотой образуются...

- а) соль хлорофиллиновой кислоты и метанол;
- б) хлорофиллиновая кислота и фитол;
- в) каротин и вода;
- г) фитол и вода;
- д) феофетин и вода.

9. Хлорофилл относится...

- а) к полиеновым углеводородам;
- б) к дикарбоновым кислотам;
- в) к двухосновным спиртам;
- г) к сложным эфирам;
- д) к диеновым углеводородам.

10. Передача энергии в хлоропластах происходит...

- а) от коротковолновых пигментов к длинноволновым;
- б) между молекулами хлорофилла;
- в) от хлорофиллов к каротину;
- г) от хлорофиллов к ксантофиллам;
- д) от флорофиллов к финобименам.

11. Фотохимическая фаза фотосинтеза не включает в себя...

- а) поглощение солнечной энергии пигментами;
- б) запасание энергии в виде энергии электронного возбуждения;
- в) миграцию энергии в реакционный центр;

- г) разделение зарядов в реакционном центре;
- д) темновую фиксацию  $\text{CO}_2$ .

12. Каротиноиды растворяются...

- а) в минеральных кислотах;
- б) в органических кислотах;
- в) в органических растворителях;
- г) в щелочах;
- д) в воде.

13. Фикобилины...

- а) поглощают красный и зеленый свет;
- б) поглощают синий и красный свет;
- в) поглощают зеленый и синий свет;
- г) поглощают желтый и зеленый свет;
- д) поглощают не поглощают света.

14. Хромофорную группу каротина образует...

- а) атом магния;
- б) остаток фитола;
- в) иононовое кольцо;
- г) система конъюгированных двойных связей;
- д) остаток метанола.

15. К продуктам нециклического транспорта электронов относятся(-ятся)...

- а) ФГК, Рибулезо-1,5-дифосфат;
- б)  $\text{O}_2$ , НАДФН+ $\text{H}^+$ , АТФ;
- в) НАДФН+ $\text{H}^+$ ,  $\text{O}_2$ , глюкоза;
- г) АТФ, Рибулезо-1,5-дифосфат;
- д) только АТФ.

16. Реакционным центром ФСІ является...

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

17. Комплекс ФСІ под действием света...

- а) восстанавливает 1,3-дифосфоглицериновую кислоту до 3-ФГА;
- б) восстанавливает пластохинон и окисляет воду с выделением  $O_2$ ;
- в) восстанавливает ферредоксин и окисляет пластоцианин;
- г) регенерирует рибулезо-1,5-дифосфат;
- д) карбоксилирует рибулезо-1,5-дифосфат.

18. Суммарное количество энергии, запасенное в световой стадии фотосинтеза в форме АТФ и НАДФН, называется...

- а) фотосинтетическим коэффициентом;
- б) фотосинтетическим потенциалом;
- в) ассимиляционной силой;
- г) дыхательным коэффициентом;
- д) продуктивностью фотосинтеза.

19. Комплекс, осуществляющий фотоокисление воды, содержит ионы...

- а) Mn;
- б) Mg;
- в) Mo;
- г) Na;
- д) Co.

20. В биохимической фазе используются следующие продукты фотохимической фазы:...

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

21. Соединение, образующееся при циклическом транспорте электронов в ФСІ, – это...

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

22. Первичным акцептором электронов в ФСII является...

- а) феофитин;
- б) ферредоксин;
- в) пластохинон;
- г) цитохром;
- д) пластоцианин.

23. Конечным акцептором электронов в ФСI является...

- а) пластоцианин;
- б) феофитин;
- в) ферредоксин;
- г) цитохром;
- д) убихинон.

24. Синтез АТФ за счет энергии света называется...

- а) субстратным фосфорилированием;
- б) окислительным фосфорилированием;
- в) отофосфорилированием;
- г) трансфосфорилированием;
- д) перефосфорилированием.

25. В электрон-транспортной цепи фотосинтеза... окисляет(-ют) пластохиноны и фосстанавливает пластоцианин.

- а) белок Риске;
- б) цитохром  $b_6f$ ;
- в) феофитин;
- г) ферредоксин;
- д) пиридиннуклеотиды.

26. Дефицит электрона в  $P_{680}^+$ , образовавшийся в процессе электронного транспорта, компенсируется за счет электронов, полученных...

- а) при восстановлении феофитина;
- б) при восстановлении пластоцианина;
- в) при окислении воды;
- г) при окислении ферредоксина;
- д) при восстановлении убихинолов.

27. Донором электронов в ФСII является...

- а) пластоцианин;
- б) ферредоксин;

- в) цитохром;
- г) феофитин;
- д) вода.

28. Нумерация фотосистем (ФС I и ФС II) отражает...

- а) величину окислительно-восстановительного потенциала;
- б) количество компонентов электрон-транспортной цепи;
- в) способность к циклическому транспорту электронов;
- г) порядок их открытия;
- д) количество комплексов АТФаз в системе.

29. ФС I восстанавливает...

- а) АДФ;
- б) НАДФ;
- в) кислород;
- г) феофитин;
- д) аскорбиновую кислоту.

30. Донором электронов для ФС I является...

- а) пластоцианин;
- б) ферредоксин;
- в) цитохром;
- г) феофитин;
- д) вода.

31. ФС II локализована главным образом в районе...

- а) хлоропластной ДНК;
- б) матрикса хлоропласта;
- в) спаренных мембран гран;
- г) краевых частей гран;
- д) поверхностных мембран гран.

32. Электронный транспорт, приводящий к реакции Мелера, называется...

- а) циклическим фотофосфорилированием;
- б) нециклическим фотофосфорилированием;
- в) псевдоциклическим фотофосфорилированием;
- г) фотозависимой редукцией нитрата;
- д) циклом Кальвина.

33. При совместном функционировании ФСII и ФСI конечным акцептором электронов является...

- а) феофитин;
- б) НАДФ;
- в) ферредоксин;
- г) АТФ;
- д) пластоцианин.

34. Фотоокисление воды происходит...

- а) в ФСII;
- б) в ФСI;
- в) в пластохинонном пуле;
- г) в комплексе цитохромов  $b_6f$ ;
- д) в комплексе железосерных белков.

35. Общим промежуточным продуктом для дыхания и брожения является...

- а) фосфоглицериновая кислота;
- б) щавелевоуксусная кислота;
- в) пировиноградная кислота;
- г) изолимонная кислота;
- д) глиоксилловая кислота.

36. При фотосинтезе и клеточном дыхании через фермент АТФ-азу проходит ион, придающий этому ферменту способность синтезировать АТФ. Это ион...

- а)  $Ca^{2+}$ ;
- б)  $H^+$ ;
- в)  $K^+$ ;
- г)  $Na^+$ ;
- д)  $NH_4^+$ .

37. Важнейшей функцией глиоксилатного цикла является...

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

38. Пентозофосфатный цикл является...

- а) источником разнообразных моносахаридов;
- б) одним из способов биосинтеза белка;
- в) источником аминокислот;
- г) путем окисления жиров;
- д) одним из видов брожения.

39. В ходе гликолиза восстанавливаются...

- а) НАД;
- б) ФАД;
- в) ФМН;
- г) ацетил-КоА;
- д) ФЕП.

40. Синтез сахаров из пировиноградной кислоты в результате обращения реакций гликолиза называют...

- а) карбоксилированием;
- б) глюконеогенезом;
- в) дегидрированием;
- г) фосфорилированием;
- д) брожением.

41. Цикл Кребса-Корнберга локализован...

- а) в глиоксисомах;
- б) в митохондриях;
- в) в пероксисомах;
- г) в рибосомах;
- д) в олеосомах.

42. Анаэробным этапом дыхания является...

- а) фотодыхание;
- б) фотоокисление воды;
- в) гликолиз;
- г) окислительное фосфорилирование;
- д) образование микоризы.

43. В цикле Кребса-Корнберга изолимонная кислота расщепляется...

- а) на глиоксиловую и фумаровую кислоты;
- б) на глиоксиловую и янтарную кислоты;



- в) на  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту и  $\text{CO}_2$ ;
- г) на янтарную и яблочную кислоты;
- д) на фумаровую и яблочную кислоты.

44. Дыхательными субстратами называют...

- а) ферментные системы дыхания;
- б) запасные питательные вещества;
- в) вещества, образующиеся во время дыхания;
- г) продукты окислительного фосфорилирования;
- д) вещества, разрушающиеся во время дыхания.

45. Сущность генетической связи дыхания и брожения выражается тем, что...

- а) оба процесса идут без доступа  $\text{O}_2$ ;
- б) для прохождения обоих процессов необходим кислород;
- в) этанол, который образуется при брожении, есть промежуточный продукт дыхания;
- г) дыхание и брожение до образования пировиноградной кислоты проходят одинаково;
- д) для обоих процессов требуются бактерии.

46. Критическим периодом для растений при стрессовых условиях является...

- а) начало вегетации;
- б) интенсивный рост вегетативных органов;
- в) закладка генеративных органов;
- г) созревание семян и плодов;
- д) зимний покой.

47. При гипоксии приспособительную роль может играть...

- а) увеличение активности пентозофосфатного пути дыхания;
- б) снижение интенсивности фотосинтеза;
- в) увеличение содержания фитогормонов;
- г) повышение содержания воды в клетках, тканях, органах растений;
- д) увеличение интенсивности минерального питания.

48. Растение не способно выжить, если кристаллы льда образовались...

- а) в межклетниках;
- б) внутри клетки;

- в) на поверхности стеблей;
- г) в проводящих тканях;
- д) на поверхности корней.

49. Способность растений переносить низкие положительные температуры называется...

- а) зимостойкостью;
- б) холодостойкостью;
- в) морозостойкостью;
- г) неспецифической устойчивостью;
- д) невосприимчивостью.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецов, В. В. Физиология растений : учебник : в 2 т. Т. 1 / В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. – М. : Юрайт, 2019. – 437 с.
2. Кузнецов, В. В. Физиология растений : учебник. и 2 т. Т. 2 / В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. – М. : Юрайт, 2019. – 459 с.
3. Юрин, В. М. Физиология растений : учеб. пособие / В. М. Юрин. – Минск : БГУ, 2010. – 455 с.
4. Хелдт, Г.-В. Биохимия растений / Г.-В. Хелдт. – М. : Бинном. Лаборатория знаний, 2011. – 463 с.
5. 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.
6. Практикум по физиологии растений : учебное пособие / В. Б. Иванов [и др.]. – М. : Академия, 2004. – 144 с.
7. Практикум по физиологии растений : учебно-методическое пособие / В. Н. Воробьев [и др.]. – Казань : Казанский университет, 2013. – 80 с.
8. Гавриленко, В. Ф. Большой практикум по фотосинтезу / В. Ф. Гавриленко, Т. В. Жигалова. – М. : Академия, 2006. – 256 с.

Производственно-практическое издание

**Храмченкова Ольга Михайловна**

**ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ:  
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

Практическое пособие

Редактор А. А. Банчук  
Корректор В. В. Калугина

Подписано в печать 18.09.2023. Формат 60x84 1/16.  
Бумага офсетная. Ризография.  
Усл. печ. л. 2,56. Уч.-изд. л. 2,8.  
Тираж 10 экз. Заказ 478.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования

«Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,  
распространителя печатных изданий № 3/1452 от 17.04.2017.

Специальное разрешение (лицензия) № 02330 / 450 от 18.12.2013.

Ул. Советская, 104, 246028, Гомель.