

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КУРГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Кафедра ботаники и генетики

Физиология растений

*Методические указания к выполнению лабораторных работ для студентов
специальностей 011600, 032400, 013500*

Курган 2004

Кафедра ботаники и генетики

Дисциплина: «Физиология растений»
(специальности: 011600 - Биология,
032400 - Биология,
013500 - Биоэкология)

Составил: канд. биол. наук Коркина Т.А.

Утверждены на заседании кафедры « 8 » января 2004 г.

Рекомендованы редакционно-издательским советом университета

« _____ » _____ 2004 г.

Содержание

Предисловие	5
1 Техника лабораторных работ. Требования к помещению лаборатории и технике безопасности.....	5
2 Лабораторные работы по физиологии растительной клетки.....	7
2.1 Свойства клеточных мембран.....	7
2.1.1 Сравнение проницаемости мембран живых и мертвых клеток.....	7
2.1.2 Окрашивание живых и мертвых клеток нейтральным красным.....	7
2.2 Растительная клетка как осмотическая система.....	8
2.2.1 Явление осмоса. Перемещение воды по градиенту водного потенциала в искусственной «клеточке» Траубе.....	9
2.2.2. Явление плазмолиза и деплазмолиза.....	10
2.2.3 Сравнение проницаемости клеточных мембран для различных веществ. Стойкий и временный плазмолиз.....	11
2.2.4 Влияние ионов калия и кальция на форму плазмолиза.....	12
2.2.5 Наблюдение колпачкового плазмолиза в растворе роданида калия.....	13
2.2.6 Тургор растительной клетки. Поглощение воды и ее выход из клеток корнеплода моркови.....	13
2.3 Определение водного потенциала растительных тканей.....	14
2.3.1 Определение величины осмотического потенциала в клетках растительной ткани плазмолитическим методом.....	14
2.3.2 Определение водного потенциала растительных тканей методом Уршпрунга (по изменению длины брусочков ткани).....	16
3 Лабораторные работы по водному обмену растений.....	17
3.1 Определение динамики поглощения воды талломом лишайника.....	18
3.2 Водообмен ветки сосны.....	19
3.3 Сравнение транспирации верхней и нижней сторон листа хлоркобальтовым методом.....	20
3.4 Наблюдение за движением устьиц.....	21
3.5 Определение состояния устьиц.....	22
3.6 Определение интенсивности транспирации весовым методом.....	23
3.7 Определение водоудерживающей способности растений методом «завядания» (по Арланду).....	25
4 Лабораторные работы по минеральному питанию растений.....	26
4.1 Микрохимический анализ золы растений.....	26
4.2 Обнаружение нитратов в растениях.....	29
5 Лабораторные работы по фотосинтезу.....	30
5.1 Пигменты фотосинтеза и их химические свойства.....	30
5.2 Разделение смеси фотосинтетических пигментов.....	33
5.3 Оптические свойства пигментов зеленого листа.....	34
5.3.1 Спектры поглощения пигментов листа.....	34
5.3.2 Наблюдение флуоресценции хлорофилла.....	35

5.4 Обнаружение процесса фотосинтеза.....	36
5.4.1 Обнаружение выделенного при фотосинтезе O ₂ с помощью метиленового синего.....	37
5.4.2 Получение отпечатков на листьях с помощью крахмальной пробы.....	37
5.4.3 Накопление первичного (ассимиляционного) крахмала в клетках листьев C ₃ - и C ₄ -растений.....	38
6 Лабораторные работы по дыханию растений.....	40
6.1 Поглощение кислорода и выделение углекислого газа при дыхании органов растений.....	40
6.2 Определение расхода органического вещества растениями при дыхании.....	40
6.3 Ферменты дыхания.....	42
7 Лабораторные работы по устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды.....	44
7.1 Определение защитного действия сахаров на протоплазму.....	44
7.2 Защитное действие сахара на белки протоплазмы при отрицательных температурах.....	45
7.3 Определение устойчивости растений к высоким температурам.....	45
7.4 Определение температурного порога коагуляции белков цитоплазмы клеток разных растений.....	46
7.5 Определение устойчивости растений к засолению.....	47
7.6 Влияние солей тяжелых металлов на плазмолиз протоплазмы растительной клетки.....	48
Список использованной литературы.....	49

ПРЕДИСЛОВИЕ

Предлагаемые методические указания представляют собой руководство для выполнения лабораторных работ по курсу «Физиология растений» для студентов, обучающихся по специальностям 011600 - Биология, 032400 - Биология, 013500 - Биоэкология.

В предлагаемых методических указаниях даны рекомендации по проведению лабораторных работ по физиологии растительной клетки, водному обмену растений, минеральному питанию растений, фотосинтезу, дыханию растений, устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды.

Для каждой работы приведены план и краткие сведения об изучаемых процессах. Перед каждой работой помещен перечень необходимого оборудования, реактивов, материалов и объектов для проведения данной работы, даны разъяснения по их выполнению. В каждом разделе методических указаний помещены описания опытов, которые могут быть использованы учителями как демонстрационные, так и лабораторные на уроках ботаники и общей биологии в средней общеобразовательной школе и в классах с углубленным изучением биологии.

При составлении методических указаний использована учебная литература, список которой помещен в конце данной работы.

1 ТЕХНИКА ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ. ТРЕБОВАНИЯ К ПОМЕЩЕНИЮ ЛАБОРАТОРИИ И ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

В лаборатории должны быть средства пожаротушения и индивидуальной защиты — огнетушители, емкости с песком, асбестовое одеяло, защитные очки, респираторы, резиновые перчатки и др.

В лаборатории необходимы емкости (15 - 20 л) из полиэтилена или других антикоррозионных материалов для слива ненужных, отработанных реактивов.

На видном месте должна находиться аптечка с набором медикаментов и препаратов, таких как мазь от ожогов, 3%-ный раствор гидрокарбоната натрия (против кислотных ожогов), 1 %-ный раствор уксусной кислоты (от щелочных ожогов), этиловый спирт, настойка йода, жгут, пластырь, перевязочные средства, вода, мензурка для капель, нашатырь, сердечные средства.

В лаборатории недопустимо скопление большого числа работающих.

Перед началом цикла работ в лаборатории студентам необходимо ознакомиться с общими для всех лабораторий правилами техники безопасности и расписаться в книге инструктажа.

Общие правила работы

1. Работать тщательно, аккуратно, без спешки; соблюдать тишину.

2. Не загромождать рабочее место портфелями, свертками, сумками и т.п. Для них отведены специальные места.
3. Курение, прием пищи (и ее хранение), употребление напитков в лаборатории запрещены.
4. Желательно работать на одном и том же месте, иметь халаты, резиновые перчатки, очки и другие средства защиты.
5. Прежде чем приступить к работе по данной теме, необходимо тщательно ознакомиться с ее описанием.
6. Без указания и разрешения преподавателя не производить никаких дополнительных опытов.
7. Перед работой с прибором и установками студент обязан прочно усвоить принципы действия прибора и основные правила обращения с ним.
8. Не брать приборы, аппараты, реактивы общего пользования на свое рабочее место.
9. Расходовать реактивы следует экономно. Если препарата приготовлено больше, чем необходимо, то его излишки надо сливать в определенную емкость, но не возвращать в склянку.
10. Пользоваться можно только маркированными реактивами.
11. Работы с вредными веществами проводить только под тягой. Концентрированные кислоты и щелочи наливать осторожно под вытяжным шкафом; не брать их на свои рабочие места.
12. Если случайно пролита кислота или щелочь, то необходимо быстро смыть раствор интенсивной струёй воды из водопроводного крана, а потом обратиться к лаборанту и по его указанию привести в надлежащий порядок свое рабочее место.
13. Не выливать в раковину отработанные концентрированные кислоты и щелочи, а пользоваться для этого банками, установленными под тягой.
14. Никакие вещества в лаборатории нельзя пробовать на вкус. Если необходимо определить запах газа или паров жидкости, хранящейся в банке или сосуде, нельзя подносить их близко к лицу, следует легкими движениями руки направить воздух от горлышка или отверстия сосуда к носу.
15. В процессе каких-либо реакций на воздухе или при нагревании нельзя держать сосуд отверстием к себе или другим работающим.
16. Горячие приборы и посуду ставить только на специальные подставки, а не на открытый стол.
17. Нельзя пользоваться при проведении опытов грязной посудой.
18. Нельзя использовать стеклянную посуду, если на ней имеются трещины, сколы, щербинки. Перед тем как вставлять стеклянную трубку в резиновый шланг или пробку, их нужно смочить водой или глицерином, а руку обмотать полотенцем. Это предохранит от тяжелых

травм.

19. После окончания работы нужно вымыть использованную посуду, выключить воду, газ, электричество и приведенное в порядок место сдать лаборанту.

20. Тщательно вымыть руки теплой водой с мылом и щеткой.

2 ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

2.1 Свойства клеточных мембран

2.1.1 Сравнение проницаемости мембран живых и мертвых клеток

Важнейшим свойством клеточных мембран является избирательная проницаемость, благодаря которой через них проходят молекулы только некоторых веществ. Это свойство мембраны сохраняется до тех пор, пока клетка остается живой. После ее гибели мембраны становятся полностью проницаемыми.

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

Материалы и оборудование: *стеклянная палочка, препаровальная игла, лезвие безопасной бритвы, линейка, три пробирки, штатив для пробирок, держатель, спиртовка, 30 %-ный раствор уксусной кислоты, вода.*

Объекты: *корнеплод столовой свеклы.*

Ход работы. В вакуолях клеток корнеплода столовой свеклы содержится пигмент, придающий ткани корнеплода окраску (бетацианин). Тонoplastы живых клеток непроницаемы для молекул этого пигмента.

Корнеплод свеклы после удаления покровных тканей нарезают на кубики (сторона кубика 5 мм) и тщательно промывают водой, чтобы удалить пигмент, вышедший из поврежденных клеток. Затем по одному кусочку опускают в три пробирки. В первую и вторую наливают по 3 – 5 мл воды, в третью 3 – 5 мл 30%-го раствора уксусной кислоты. Первую пробирку оставляют для контроля. Содержимое второй кипятят 2 – 3 мин. Во второй и третьей пробирках, где клетки были убиты кипячением или кислотой, вода окрашивается, т.к. после гибели клеток тонoplast теряет свойство полупроницаемости и становится проницаемым для молекул пигмента. В первой пробирке вода остается неокрашенной.

Задание: *выявить различия в проницаемости мембран живых и мертвых клеток и сделать вывод о причинах этих различий.*

2.1.2 Окрашивание живых и мертвых клеток нейтральным красным

Молекулы нейтрального красного не задерживаются в цитоплазме

живой растительной клетки, а с участием аппарата Гольджи и тонопласта активно выделяются в вакуоль. Поэтому у живых клеток краситель накапливается в вакуоли, а ядро и цитоплазма остаются неокрашенными. У мертвых клеток, наоборот, цитоплазма и особенно ядро адсорбируют краситель, а в вакуолярном соке он не задерживается. Поэтому у мертвых клеток ярко окрашивается ядро, в меньшей степени цитоплазма, а вакуоли остаются неокрашенными.

Цель работы: ознакомиться с методами, позволяющими выявить состояние растительных клеток с помощью их окрашивания.

Материалы и оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла, лезвие безопасной бритвы, фильтровальная бумага, спиртовка, пинцет, препаровальная игла, пинцет, для окрашивания используют водный раствор нейтрального красного в концентрации 0,01 % с реакцией среды, близкой к нейтральной (раствор готовят непосредственно перед употреблением: 0,1%-ный раствор нейтрального красного, приготовленного в дистиллированной воде, разводят водопроводной водой).

Объекты: луковица лука репчатого.

Ход работы. На вогнутой поверхности чешуи луковицы лезвием безопасной бритвы делают надрезы в виде небольших квадратиков. Уголок квадратика надрезанной эпидермы захватывают пинцетом, легко снимают ее с чешуи и помещают в раствор красителя на предметное стекло. Выдерживают в этом растворе 3 - 5 мин. Затем, накрыв препарат стеклом, рассматривают его при малом, а потом при большом увеличении. При малом увеличении отчетливо видны розовые и розовато-оранжевые вакуоли, накопившие краситель. Интенсивность их окраски в соседних клетках может быть разной, так как клетки различаются по скорости накопления красителя. Отсутствие окраски в цитоплазме и ядре этих клеток легко обнаружить при большом увеличении.

Окрашенные клетки «убивают», подержав предметное стекло над пламенем спиртовки до тех пор, пока под покровным стеклом не начнут появляться пузырьки. Затем снова рассматривают препарат под микроскопом.

После гибели клеток окраска их изменяется: ярко окрашивается ядро, менее ярко — цитоплазма, расположенная тонким слоем вдоль стенок, а в вакуолях окраска исчезает.

Задание: сравнить окраску живых и мертвых клеток, сделать рисунки, сформулировать выводы о возможности использования витальных (прижизненных) красителей для выявления живых и мертвых клеток.

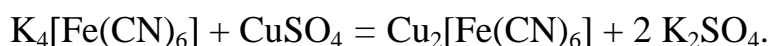
2.2 Растительная клетка как осмотическая система

Вода растительными клетками поглощается по законам осмоса. Перемещение молекул воды из внешней среды в клетку, а также от клетки к клетке происходит по градиенту уровня свободной энергии молекул воды. За

точку отсчета уровня свободной энергии молекул воды берется ее уровень у молекул чистой воды в стандартных условиях. Химический потенциал воды в водных растворах и клетках меньше, чем у чистой воды. Эта разница, называемая водным потенциалом, отражает способность воды в данной системе совершать работу в сравнении с работой, которую при тех же условиях совершала бы чистая вода. Молекулы растворенных в воде веществ снижают уровень свободной энергии молекул воды. Это снижение измеряется осмотическим потенциалом ($\psi_{осм}$). Перемещение молекул воды в системе, состоящей из двух растворов с разными концентрациями, разделенных полупроницаемой мембраной, осуществляется по градиенту концентраций (из раствора с меньшей концентрацией, обладающего более высоким $\psi_{осм}$, в раствор с большей концентрацией, имеющего более низкий $\psi_{осм}$).

2.2.1 Явление осмоса. Перемещение воды по градиенту водного потенциала в искусственной «клеточке» Траубе

«Клеточка» Траубе — модель клетки, предложенная исследователем Траубе. Ее получают, помещая кристаллик гексоцианоферрата (II) калия $K_4[Fe(CN)_6]$ в водный раствор $CuSO_4$. Вокруг кристаллика в результате взаимодействия солей образуется осадочная мембрана гексоцианоферрата (II) меди:



Эта мембрана проницаема только для молекул воды, но не для растворенных в ней веществ, т. е. обладает свойством полупроницаемости.

Цель работы: получить «клеточку» Траубе и пронаблюдать явление осмоса — перемещение воды через полупроницаемую мембрану по градиенту осмотического потенциала.

Материалы и оборудование: 0,5 %-ный водный раствор $CuSO_4$, кристаллы гексоцианоферрата (II) калия, пробирки или цилиндры на 10 мл.

Ход работы. В небольшой цилиндр или пробирку наливают на $\frac{3}{4}$ объема 0,5%-ный раствор медного купороса и затем на дно этого сосуда опускают кристаллик $K_4[Fe(CN)_6]$. Мембрана образует замкнутый мешочек, который автор опыта Траубе назвал искусственной клеточкой. Полупроницаемая пленка $Cu_2[Fe(CN)_6]$ разделяет два раствора разной концентрации: внутри мешочка находится концентрированный раствор ферроцианида калия (образующийся при растворении кристаллика соли), а снаружи — раствор сульфата меди. Возникает ток воды внутрь мешочка, объем раствора ферроцианида калия увеличивается, в результате чего мембрана растягивается. Будучи очень тонкой, мембрана в отдельных местах разрывается под действием гидростатического давления. В этих местах соли

снова взаимодействуют, возникают новые участки мембраны, что приводит к неравномерному увеличению размера мешочка. Мешочек будет расти, пока весь кристаллик не растворится. Дальнейшее поступление воды в мешочек приведет к разрыву пленки, и она осядет в виде хлопьев на дно стаканчика.

Задание: описать опыт, сделать рисунок, сформулировать вывод о механизме перемещения воды через полупроницаемую мембрану.

2.2.2 Явление плазмолиза и деплазмолиза

Растительная клетка похожа на искусственную «клеточку» Траубе, так как внутри нее в вакуоли находится водный раствор различных веществ, окруженный тонопластом, плазмалеммой и слоем цитоплазмы между ними. Все вместе они образуют полупроницаемую мембрану. Вода может поступать в клетку или выходить из нее в зависимости от величин водных потенциалов в клетке и в наружной среде. Снаружи от полупроницаемой мембраны находится клеточная стенка, которая проницаема для воды и растворенных в ней веществ и не препятствует перемещению воды. Процесс выхода воды из клетки и поступления ее в клетку через полупроницаемую мембрану можно проследить, наблюдая явления плазмолиза и деплазмолиза. При помещении клетки в водный раствор какого-либо вещества происходит *плазмолиз* — отхождение протопласта от стенки клетки из-за уменьшения его объема вследствие выхода воды из клетки в наружный раствор. После замены наружного раствора на чистую воду, последняя начинает поступать внутрь клетки. Объем протопласта при этом увеличивается и происходит деплазмолиз. После его завершения протопласт вновь заполняет весь объем клетки.

Цель работы: доказать на основании явлений плазмолиза и деплазмолиза, что клетка — это осмотическая система.

Материалы и оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла, лезвие безопасной бритвы, фильтровальная бумага, спиртовка, пинцет, препаровальная игла, пинцет, 1 М раствор NaCl, вода.

Объекты: луковица лука репчатого.

Ход работы. На предметное стекло наносят каплю 1 М раствора NaCl и помещают в нее срез, сделанный с выпуклой стороны чешуи луковицы. Препарат накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. Наблюдают отхождение протопласта от клеточных стенок.

Затем, не снимая предметное стекло со столика микроскопа, удаляют раствор из-под покровного стекла, приложив к нему с одной стороны кусочек фильтровальной бумаги. С другой стороны покровного стекла в непосредственной близости к нему наносят каплю чистой воды, которая проникает под стекло к рассматриваемой эпидерме. Наблюдают за изменениями, происходящими в клетках. Вода поступает в клетку, в сторону более концентрированного раствора. Это приводит к увеличению объема

протопласта. В результате деплазмолиз сменяет плазмолиз сначала в клетках по краю среза, а затем и в остальных; постепенно протопласт занимает прежнее постенное положение.

Препарат нагревают на спиртовке, затем охлаждают и рассматривают под микроскопом. Меняют воду на 1 М раствор NaCl. Наблюдают за происходящими изменениями.

Задание: описать опыт, сделать рисунки и сформулировать выводы.

2.2.3 Сравнение проницаемости клеточных мембран для различных веществ. Стойкий и временный плазмолиз

Избирательная проницаемость мембран обеспечивает прохождение через них молекул воды, препятствует проникновению растворенных в воде веществ и обуславливает явление плазмолиза при действии на клетку гипертонического раствора. Если же молекулы растворенного вещества через мембрану проходят, но медленнее, чем молекулы воды, то начавшийся плазмолиз потом исчезает. Деплазмолиз происходит в результате постепенного проникновения растворенного вещества в клетку, выравнивания концентраций снаружи и внутри, а также поступления воды в клетку из наружного раствора по градиенту концентрации.

Цель работы: изучить проницаемость клеточных мембран для хлорида натрия и карбамида.

Материалы и оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла, лезвие безопасной бритвы, пинцет, препаровальная игла, пинцет, 1 М раствор NaCl, 1 М раствор карбамида.

Объекты: луковица лука репчатого.

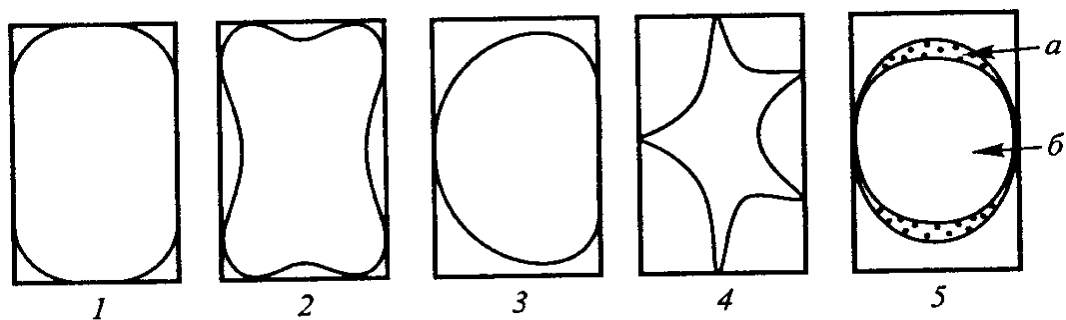
Ход работы. На два предметных стекла наносят по капле раствора: на одно — 1 М раствор хлорида натрия, на другое — 1 М раствор карбамида. В каждую каплю помещают по срезу, сделанному с выпуклой стороны чешуи луковицы, накрывают покровными стеклами и рассматривают под микроскопом. Находят участки листа, в которых хорошо видны плазмолизованные клетки. Отмечают время начала плазмолиза (начало наблюдения), зарисовывают плазмолизованные клетки и оставляют препараты на 30 - 60 мин, затем вновь их рассматривают. В растворе сахарозы плазмолиз в клетках сохраняется, а в растворе карбамида происходит деплазмолиз. В растворе сахарозы наблюдается стойкий плазмолиз, а в растворе карбамида — временный. Причиной деплазмолиза в растворе карбамида является проницаемость клеточных мембран для ее молекул. Так как проницаемость для карбамида меньше, чем для воды, то вода из клетки выходит быстрее, чем в нее входит мочевины. Это и вызывает плазмолиз, который потом исчезает при увеличении в клетке концентрации карбамида и поступлении воды.

Задание: описать работу, зарисовать плазмолизованные и

деплазмолизованные клетки и сформулировать выводы.

2.2.4 Влияние ионов калия и кальция на форму плазмолиза

В ходе плазмолиза форма плазмолизованного протопласта меняется. Вначале протопласт отстает от клеточной стенки лишь в отдельных местах, чаще всего в уголках. Плазмолиз такой формы называют *уголковым*. Затем протопласт продолжает отставать от клеточных стенок, сохраняя связь с ними в отдельных местах, поверхность протопласта между этими точками имеет вогнутую форму. На этом этапе плазмолиз называется *вогнутым*. Постепенно протопласт отрывается от клеточных стенок по всей поверхности и принимает округлую форму. Такой плазмолиз носит название *выпуклого*. Если у протопласта связь с клеточной стенкой в отдельных местах сохраняется, то при дальнейшем уменьшении объема в ходе плазмолиза протопласт приобретает неправильную форму. Такой плазмолиз носит название *судорожного* (рисунок 1). Время, в течение которого вогнутый плазмолиз переходит в выпуклый, позволяет оценивать степень вязкости цитоплазмы.



1 - уголковый; 2 - вогнутый; 3 - выпуклый; 4 - судорожный;
5 - колпачковый (а - цитоплазма; б - вакуоль)

Рисунок 1 - Формы плазмолиза

Цель работы: изучить влияние различных катионов на форму плазмолиза.

Материалы и оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла, лезвие безопасной бритвы, пинцет, препаровальная игла, пинцет, 1 М раствор KNO_3 , 0,7 М раствор $Ca(NO_3)_2$.

Объекты: луковица лука репчатого.

Ход работы. На одно предметное стекло наносят каплю 1 М раствора нитрата калия, на другое — 0,7 М раствора нитрата кальция. В обе капли помещают по срезу, сделанному с выпуклой стороны чешуи луковицы, накрывают покровными стеклами. Через 5 - 10 мин препараты рассматривают под микроскопом. Ионы калия, проникая в цитоплазму,

повышают ее гидрофильность, уменьшают вязкость и способствуют ее быстрому отрыву от клеточной стенки. Поэтому в растворах солей калия плазмолиз быстро принимает форму выпуклого. Ионы кальция, наоборот, повышают вязкость цитоплазмы, увеличивают силы сцепления ее с клеточной стенкой, и плазмолиз принимает форму судорожного плазмолиза.

Задание: зарисовать формы плазмолиза, описать работу и сделать выводы.

2.2.5 Наблюдение колпачкового плазмолиза в растворе роданида калия

При нахождении клеток в растворе роданида калия цитоплазма набухает в удлинённых клетках, и там, где протопласт не касается клеточных стенок, образуются так называемые колпачки цитоплазмы. Такой плазмолиз носит название *колпачкового* (рисунок 1).

Цель работы: пронаблюдать колпачковый плазмолиз в соли калия.

Материалы и оборудование: микроскоп, предметные и покровные стекла, лезвие безопасной бритвы, пинцет, препаровальная игла, пинцет, 1 М раствор KSCN.

Объекты: лист элодеи.

Ход работы. На предметное стекло наносят каплю 1М раствора роданида калия, помещают в нее лист элодеи, накрывают покровным стеклом и сразу рассматривают под микроскопом. Колпачковый плазмолиз свидетельствует о разной проницаемости плазмалеммы и тонопласта для ионов калия. Ионы калия, проникая через плазмалемму в цитоплазму, вызывают ее набухание. В вакуоль через тонопласт они не проходят. Объем плазмолированной вакуоли не увеличивается и плазмолиз сохраняется.

Задание: сделать рисунок и сформулировать вывод о причине появления колпачкового плазмолиза.

2.2.6 Тургор растительной клетки. Поглощение воды и ее выход из клеток корнеплода моркови

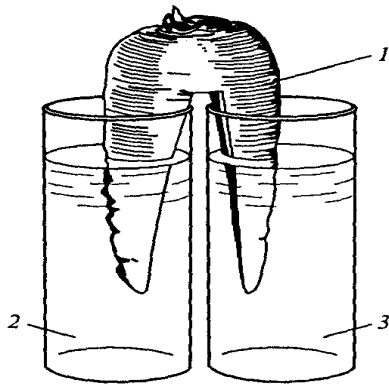
Поступление воды в растительную клетку, помещенную в чистую воду, ограничено клеточной стенкой, растяжение которой не бесконечно. В клетке повышается гидростатическое (тургорное) давление. Это увеличивает свободную энергию молекул воды до уровня свободной энергии молекул чистой воды, и водный потенциал клетки становится равным нулю. Это полностью насыщенные водой клетки. Если клетки поместить не в воду, а в раствор какого-либо осмотика (поваренная соль, сахароза и др.), то вода выходит из клеток и они теряют тургор.

Цель работы: продемонстрировать явление тургора на примере поступления и выхода воды в клетках корнеплода моркови.

Материалы и оборудование: 2 стакана, насыщенный раствор NaCl, вода, нож.

Объекты: корнеплод моркови.

Ход работы. Из середины корнеплода моркови вырезают, начиная с кончика корня, продольную полосу ткани шириной 8 - 12 мм и удаляют ее. Две части корня остаются соединенными на протяжении примерно 1/5 всей его длины (рисунок 2). Обе части корнеплода помещают в два стакана, стоящие рядом, в одном — насыщенный водный раствор хлорида натрия, в другом — вода.



1 - корнеплод моркови;
2 - стакан с водой;
3 - стакан с раствором поваренной соли

Рисунок 2 - Поглощение и выход воды из клеток корнеплода моркови

Через 1,5 - 2ч корень извлекают из стаканов, сравнивают размер и тургор тканей в его половинах и делают вывод о том, в каком из стаканов произошел выход воды из тканей корня, приведший к потере ими тургора.

Задание: сделать рисунок корнеплода моркови и сформулировать вывод о состоянии обеих его частей.

2.3 Определение водного потенциала растительных тканей

2.3.1 Определение величины осмотического потенциала в клетках растительной ткани плазмолитическим методом

Этот метод основан на подборе наружного раствора известной концентрации, осмотический потенциал которого равняется осмотическому потенциалу клеток. Такой раствор выбирают, наблюдая за степенью плазмолиза, вызываемого в клетках исследуемой ткани растворами разных концентраций. Чем больше осмотический потенциал наружного раствора по сравнению с осмотическим потенциалом клеток, тем сильнее выражен плазмолиз, и наоборот. Задача сводится к тому, чтобы найти два соседних по концентрации раствора, в одном из которых можно наблюдать едва заметный уголкообразный плазмолиз 50 % клеток, а в другом — отсутствие плазмолиза. Первый раствор будет гипертоническим по отношению к раствору внутри клеток, а второй — гипотоническим. Изотоническим по отношению к раствору внутри клеток следует признать раствор, концентрация которого будет средней между концентрациями двух указанных выше растворов. Осмотический потенциал этого раствора равен осмотическому потенциалу клеток. Тургорное давление в клетках, помещенных в этот раствор, равно

нулю, поскольку они находятся в состоянии, предшествующем плазмолизу. Поэтому способность поглощать воду определяется только их осмотическим потенциалом.

Цель работы: ознакомиться с плазмолитическим методом определения величины осмотического потенциала клеток.

Материалы и оборудование: 1М раствор хлорида натрия, дистиллированная вода, пробирки или стаканчики для приготовления растворов, предметные и покровные стекла, фильтровальная бумага, лезвие безопасной бритвы, пинцет, стеклянная палочка, микроскоп, бюретки.

Объекты: луковица лука репчатого.

Ход работы. Готовят по 10 мл растворов хлорида натрия (или сахарозы) следующих концентраций: 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 1М. Для этого исходный 1 М раствор разбавляют дистиллированной водой по схеме (таблица 1). Для отмеривания воды и раствора пользуются пипетками. Приготовленные растворы взбалтывают. Стаканчики этикетировывают и ставят в один ряд по убывающей концентрации. Против каждого из стаканчиков кладут чистые и сухие предметные стекла и переносят на них с помощью стеклянной палочки капли растворов из соответствующих стаканчиков. Перед погружением стеклянной палочки в следующий раствор ее споласкивают дистиллированной водой, тщательно вытирают фильтровальной бумагой.

Таблица 1 - Схема приготовления растворов NaCl

Концентрация раствора, М	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
1 М исходный раствор NaCl, мл	1	2	3	4	5	6	7	8
Дистиллированная вода, мл	9	8	7	6	5	4	3	2

В приготовленные капли помещают кусочки верхней эпидермы чешуи луковицы. Для этого в средней части одной и той же чешуи на ее вогнутой стороне лезвием бритвы надрезают эпидерму небольшими квадратиками. Затем пинцетом снимают находящиеся рядом кусочки эпидермы, помещают их на предметные стекла в заранее приготовленные капли разных растворов и накрывают чистыми и сухими покровными стеклами. Вся процедура приготовления препаратов эпидермы должна проходить быстро, без задержек, чтобы избежать подсыхания капель растворов и кусочков ткани, так как это может привести к изменению их водных потенциалов. Через 10 - 20 мин препараты просматривают под микроскопом, отмечая наличие или отсутствие плазмолиза. Делают рисунки клеток с типичной для каждого

раствора степенью плазмолиза.

Выбирают два соседних по концентрации раствора, в которых в одном из них наблюдается уголковый плазмолиз, а в другом плазмолиза нет. Раствор со средней концентрацией между концентрациями этих двух растворов будет изотоничен раствору в клетке, т.е. его водный потенциал будет равен водному потенциалу клетки. Рассчитывают величину этого раствора, используя уравнение Вант-Гоффа:

$$\Psi_{осм} = - R \cdot T \cdot C \cdot i,$$

где R - газовая постоянная 0,0821 (л·атм)/(град·моль); T - абсолютная температура, градусы; C - концентрация в молях; i - изотонический коэффициент, характеризующий степень гидролитической диссоциации растворенного вещества (таблица 2) и для неэлектролитов равный 1. Для перевода величины водного потенциала, рассчитанного в атмосферах, в кПа полученный результат нужно умножить на 101,3.

Таблица 2 - Значение изотонического коэффициента i для растворов NaCl (20°C)

NaCl, М	1,0	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,01
i	1,62	1,64	1,66	1,68	1,70	1,73	1,75	1,78	1,83	1,93

Задание: определить величину осмотического потенциала в клетках эпидермы чешуи луковицы плазмолитическим методом.

2.3.2 Определение водного потенциала растительных тканей методом Уршпрунга (по изменению длины брусочков ткани)

Этот метод основан на подборе внешнего раствора известной концентрации, водный потенциал которого окажется равным величине водного потенциала клеток тканей. Водный потенциал внешнего раствора определяется его осмотическим потенциалом. При погружении полосок исследуемой ткани в раствор, $\Psi_{осм}$ которого меньше, длина полосок ткани уменьшается. Если меньше $\Psi_{осм}$ раствора, то клетки поглощают воду из раствора, объем их увеличивается и длина полосок ткани тоже возрастает. Длина полосок ткани остается без изменения в том растворе, у которого $\Psi_{осм}$ равен $\Psi_{осм}$ клеток растительной ткани.

Цель работы: познакомиться с методом определения водного потенциала ткани по Уршпрунгу.

Материалы и оборудование: 1М раствор хлорида натрия, дистиллированная вода, бюретки, штативы для бюреток, пробирки, нож для вырезания полосок ткани, линейки или миллиметровая бумага.

Объекты: клубни картофеля, корнеплоды репы, моркови.

Ход работы. В семи стаканчиках готовят по 10 мл растворов хлорида натрия убывающей концентрации: 0,8; 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 М. Для приготовления растворов пользуются пипетками. Исходный 1 М раствор NaCl разбавляют дистиллированной водой (таблица 1).

Из органа растения нарезают пластины толщиной 5 мм и делят на одинаковые бруски шириной около 5 мм и длиной 20 мм. Длину каждого бруска точно измеряют с помощью линейки перед его погружением в раствор и после выдерживания его в растворе в течение 40 - 50 мин. Результаты измерений записывают в таблицу 3.

Таблица 3 - Влияние концентрации раствора на длину брусочков клубня картофеля

Концентрация растворов, М	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
Первоначальная длина брусочков, мм								
Длина брусочков после пребывания в растворе, мм								
Изменение длины брусочков, мм								

Констатируют, как изменилась длина брусочка в каждом растворе. Выявляют тот раствор, в котором длина брусочка не изменилась; $\Psi_{осм}$ этого раствора равен $\Psi_{осм}$ клеток растительной ткани. Его величину рассчитывают, используя уравнение Вант-Гоффа:

$$\Psi_{осм} = - R \cdot T \cdot C \cdot i,$$

где R - газовая постоянная 0,0821 (л·атм)/(град·моль); T - абсолютная температура, градусы; C - концентрация в молях; i - изотонический коэффициент, характеризующий степень гидролитической диссоциации растворенного вещества (таблица 2) и для неэлектролитов равный 1. Для перевода величины водного потенциала, рассчитанного в атмосферах, в кПа полученный результат нужно умножить на 101,3.

Задание: определить величину водного потенциала тканей растения методом Уришпрунга.

3 ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО ВОДНОМУ ОБМЕНУ РАСТЕНИЙ

3.1 Определение динамики поглощения воды талломом лишайника

Приспособления растений к недостатку воды весьма разнообразны. В частности, чрезвычайно высокую устойчивость к условиям дефицита влаги проявляют лишайники. Именно способность лишайников адаптироваться к неблагоприятным условиям, в том числе к засухе, определила их широкое географическое распространение. Эта эволюционно выработанная адаптация носит комплексный характер. При неблагоприятных условиях все процессы замедляются, становятся латентными, в то время как при благоприятных - быстро восстанавливаются. Одним из путей физиологической адаптации лишайников к ксеротическим условиям является быстрая потеря воды и отсутствие специальных приспособлений для предохранения от испарения. Способность быстро высыхать позволяет лишайникам без повреждений переносить нагревание солнечными лучами, что было бы опасно для влажного таллома. В засушливый период некоторые виды лишайников содержат лишь 2 – 10 % воды. Лишайники способны жить без воды более года. При увлажнении физиологические функции лишайников быстро восстанавливаются.

Цель работ: определить динамику поглощения воды воздушно-сухими талломами лишайников при увлажнении.

Материалы и оборудование: чашки с увлажненной фильтровальной бумагой; часы с секундомером; торсионные весы со шкалой до 1 г.

Объекты: талломы лишайников, хранившиеся в лабораторных условиях в воздушно-сухом состоянии при слабом освещении.

Ход работы. Три таллома лишайника взвесить на торсионных весах и поместить во влажную камеру. В качестве камеры можно использовать чашку Петри, чашки с увлажненной фильтровальной бумагой, в которой установлен определенный режим влажности. Последующие взвешивания производят с интервалами 1, 3, 5, 10, 30, 40, 50 мин.

Таблица 4 - Динамика поглощения талломом лишайника воды

Время, мин	Масса таллома, мг			Масса поглощенной воды, мг							
				всего			на 1 г сухого таллома			средняя	
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		

Задание: определите количество воды, поглощенной лишайником за определенные интервалы времени вычитанием исходной (сухой) массы таллома из очередного результата взвешивания, показывающего массу

увлажненного таллома. Проведите расчет поглощения воды на 1 г сухого таллома. Результаты занесите в таблицу (таблица 4). В окончательном виде результаты представьте в форме графика, где по горизонтали отложено время, а по вертикали - масса поглощенной воды на 1 г сухого таллома (каждая точка представляет собой среднюю величину для трех определений).

3.2 Водообмен ветки сосны

Водообмен растения складывается из поступления воды в растение, передвижения воды по проводящим тканям и транспирации. Для этого растение помещают в банку с определенным количеством воды, принимают меры против испарения воды непосредственно из банки и взвешивают всю установку. Через несколько дней вторично взвешивают установку, учитывают количество оставшейся в банке воды и на основе полученных данных вычисляют количество поглощенной растением воды (по убыли воды в банке) и количество транспирированной воды (по уменьшению веса всей установки). Для получения ответа на вопрос, по какой части стебля идет восходящий ток, к воде добавляют небольшое количество краски, а также ставят второй опыт с окольцованным стеблем.

Цель работы: провести количественный учет и изучить особенности трех основных процессов, из которых складывается водообмен веток сосны.

Материалы и оборудование: 0,003 % раствор эозина, весы технические, разновесы, стеклянные банки на 300 - 500 мл с пробками (2 шт.), бритва, скальпель, пробочные сверла, кристаллизатор большой, вода кипяченая, парафин, электроплитка, вата, бумага, клей, цветные карандаши.

Объект: ветки сосны.

Ход работы. Налить в банку примерно на $\frac{3}{4}$ воду, подкрашенную эозином, наклеить этикетку и взвесить банку с водой. Взять 2-летнюю ветку сосны, очистить нижнюю часть стебля (до мутовки побегов) от хвои и вставить стебель в отверстие пробки. Если имеется резиновая пробка, то можно очень плотно зажать в ней ветку, для чего нужно просверлить в пробке отверстие немного меньше толщины стебля, вставить в отверстие с нижней стороны более крупное сверло, опустить в сверло с верхней стороны пробки стебель и, придерживая пробку и стебель пальцами, вытащить сверло из пробки. Если пробка корковая, то приходится делать отверстие немного больше толщины ветки, а затем закрыть ватой щели между веткой и пробкой. Вставив ветку в пробку, следует обновить срез стебля под водой: погрузить нижний конец стебля в кристаллизатор с кипяченой водой и отрезать наискось острой бритвой кусок стебля длиной 6 - 8 см. Продержав свежесрезанный конец стебля под водой не менее $\frac{1}{2}$ мин, вставить пробку с веткой в банку так, чтобы нижний конец стебля не доходил до дна банки на 1-2 см. Залить пробку парафином (если пробка резиновая и плотно закрывает

банку, то можно этого не делать) и взвесить всю установку с точностью до 0,1 г.

Таблица 5 - Водный обмен ветки сосны

Вариант	Вес банки с водой, г		Вес всей установки, г		Количество воды, г		Вес хвои, г	Поверхность, г	Интенсивность транспирации, г/м ² ч
	исходный	через 7 дней	исходный	через 7 дней	поглощенной	испаренной			
Неокольцованная ветка									
Окольцованная ветка									

Поставить таким же способом опыт с другой веткой, у которой после закрепления ее в отверстии пробки окольцевать стебель. Для этого ниже пробки, но выше уровня жидкости сделать два круговых надреза коры на расстоянии 1 см один от другого и снять кольцо коры (до белой древесины).

Через неделю сделать второе взвешивание всей установки, вынуть пробку с веткой и взвесить банку с оставшейся в ней водой. Если пробку заливали парафином, то перед взвешиванием необходимо тщательно удалить весь оставшийся на стенках банки парафин. Оборвать всю хвою и взвесить.

Сделать бритвой продольные или поперечные разрезы стеблей и зарисовать, обозначив красным карандашом части, окрашенные эозином.

Задание: запишите результаты в таблицу 5. Испаряющую поверхность вычислить исходя из того, что 1 г сырой хвои сосны соответствует поверхности в 33 см² (поверхностью стебля можно пренебречь). Интенсивность транспирации вычислить, деля количество испаренной воды на поверхность хвои и продолжительность опыта.

3.3 Сравнение транспирации верхней и нижней сторон листа хлоркобальтовым методом

Если прижать к листу предварительно высушенный кусок фильтровальной бумаги, пропитанной раствором хлорида кобальта, то бумага, поглощая выделяющиеся в процессе транспирации водяные пары, будет менять свою окраску из голубой (цвет сухого CoCl₂) в розовый (цвет CoCl₂·H₂O). По быстроте порозовения можно приблизительно судить об интенсивности транспирации.

Цель работы: сравнить интенсивность транспирации верхней и нижней сторон листа.

Материалы и оборудование: куски хлоркобальтовой бумаги, одинаковые стеклянные пластинки, резиновые кольца для перевязывания стеклянных пластинок, пинцет, плитка, лезвие бритвы, предметные и покровные стекла, препаровальные иглы, стакан с водой.

Объекты: листья любых растений.

Ход работы. Просушите над электроплиткой сложенный пополам кусок хлоркобальтовой бумаги до появления ярко голубого цвета и немедленно приложить его к двум сторонам листа. Хлоркобальтовые бумажки следует держать пинцетом, и не дотрагиваться до них пальцами, от которых могут остаться розовые пятна. Для устранения действия атмосферной влаги, осторожно зажмите лист вместе с наложенной на него бумагой между двумя стеклянными пластинками и перевяжите их резиновыми кольцами. Пронаблюдайте за изменением окраски хлоркобальтовой бумаги и запишите результат.

Сделайте срезы верхнего и нижнего эпидермиса исследуемого листа, рассмотрите их в микроскоп, зарисуйте.

Задание: сравните интенсивность транспирации верхней и нижней сторон листа. Сделайте выводы о причинах разной интенсивности транспирации верхней и нижней сторон листа и о соотношении между устьичной и кутикулярной транспирацией.

3.4 Наблюдение за движением устьиц

У замыкающих клеток устьиц стенки, прилегающие к устьичной щели, утолщены, а наружные стенки тоньше. Неодинаковая толщина стенок замыкающих клеток приводит к тому, что при изменении тургора замыкающие клетки способны менять форму, открывая или закрывая при этом устьичную щель. Следовательно, степень насыщения клеток водой оказывает очень большое влияние на движение устьиц. Различают три типа устьичных движений: гидропассивные, гидроактивные, фотоактивные.

Гидропассивные движения закрывания связаны с насыщением водой клеток, которые окружают устьица. *Гидроактивное закрывание* устьиц связано с увеличением в самих клетках устьиц водного дефицита и с повышением в них содержания абсцизовой кислоты, которая подавляет работу H^+ -насосов на мембранах замыкающих клеток. Это приводит к снижению тургора замыкающих клеток и, следовательно, к закрыванию устьиц. *Фотоактивное открывание* устьиц состоит в увеличении ширины устьичной щели при повышении интенсивности.

Цель работы: наблюдать за устьичными движениями в воде и в растворе глицерина.

Материалы и оборудование: растворы глицерина (5 %- и 20%-ный), 1М

раствор сахарозы, микроскопы, предметные и покровные стекла, препаровальные иглы, фильтровальная бумага, бюксы.

Объекты: листья любых растений.

Ход работы. Приготавливают несколько срезов нижней эпидермы листа и помещают их в 5%-ный раствор глицерина на предметное стекло. Наблюдают процесс плазмолиза. Глицерин проникает в вакуоли замыкающих клеток, понижает их водный потенциал и, следовательно, повышает их способность всасывать воду. Устьичные щели при этом закрываются.

Через некоторое время (минут через 15), вследствие того, что глицерин начинает проникать через цитоплазму в клеточный сок, наступает деплазмолиз и устьица открываются.

Затем глицерин меняют на воду, оттягивая его из-под стекла фильтровальной бумагой. При этом наблюдается еще больше открывание устьичных щелей, т.к. вследствие проникновения глицерина в клеточный сок осмотическое давление в замыкающих клетках повышается.

После этого воду заменяют сильным осмотиком — 20%-ным раствором глицерина или 1 М раствором сахарозы. Наблюдают закрывание устьиц.

Задание: зарисовать устьица в воде и в растворах 5%-го глицерина. Объяснить причину устьичных движений.

3.5 Определение состояния устьиц

Межклетники листа обычно бывают заполнены воздухом, благодаря чему при рассматривании на свет лист представляется матовым. Если произойдет инфильтрация, т.е. заполнение межклетников какой-либо жидкостью, то соответствующие участки листа становятся прозрачными.

Определение состояния устьиц методом инфильтрации основано на способности жидкостей, смачивающих клеточные оболочки, проникать в силу капиллярности через открытые устьичные щели в ближайшие межклетники, вытесняя из них воздух, в чем легко можно убедиться по появлению на листе прозрачных пятен. Разные жидкости способны проникать в устьичные щели, открытые в различной степени: ксилол легко проникает через слабо открытые устьица, бензол – через устьица открытые средне, а этанол способен проникать только через широко открытые устьица.

Цель работы: исследовать листья, выдержанные в различных условиях (свежие, подвявшие, освещенные, затемненные).

Материалы и оборудование: ксилол, бензол, этиловый спирт.

Объекты: листья различных растений.

Ход работы: на нижнюю поверхность листа нанести отдельно маленькие капли ксилола, бензола, этилового спирта. Держать лист в горизонтальном положении до полного исчезновения капель, которые либо испаряются, либо

проникают внутрь листа. Рассмотрите листья на свет. Результаты запишите в таблицу 6, отмечая полное проникновение жидкости знаком « + », а отсутствие проникновения знаком « - ».

Таблица 6 - Проникновение различных растворителей в листья растений

Объект	Условия опыта	Ксилол	Бензол	Спирт	Состояние устьиц
1					
2					
...					

Задание: исследуйте и сделайте выводы о влиянии внешних условий на степень открытия устьиц.

3.6 Определение интенсивности транспирации весовым методом

Транспирация – это процесс испарения воды в атмосферу надземными органами растений. Интенсивность транспирации – это количество воды, испаренной с единицы листовой поверхности в единицу времени (например, с 1 м² за 1 ч). Относительная транспирация – отношение интенсивности транспирации к интенсивности испарения со свободной водной поверхности при тех же условиях; этот показатель характеризует способность растений регулировать транспирацию и выражается в виде десятичной дроби или в процентах.

Весовой метод учета транспирации основан на определении количества испаренной воды по уменьшению веса целого растения или срезанного побега (или даже отдельного листа). Побег (лист) срезают и дважды взвешивают, причем интервал между взвешиваниями не должно быть больше 5 мин, так как при более длительной экспозиции может начаться завядание листьев, приводящее к уменьшению интенсивности транспирации. Для взвешивания используют торсионные весы.

Цель работы: сравнить интенсивность транспирации листьев растений, относящихся к разным экологическим группам.

Материалы и оборудование: весы торсионные, ножницы, скальпель, крышка чашки Петри, миллиметровая бумага, фильтровальная бумага, вода комнатной температуры.

Объекты: комнатные растения или свежесрезанные ветки древесных пород.

Ход работы. Установите весы. Срежьте лист с растения и быстро взвесьте. Через 3 – 5 мин взвесьте лист повторно

Для определения поверхности листьев разложите листья на бумаге (лучше всего миллиметровой), тщательно обведите листья карандашом,

вырежьте и взвесьте полученные бумажные фигуры. Кроме того, взвесьте вырезанный из той же бумаги квадрат известной площади (например, 1 см²) и найдите площадь листовых пластинок по пропорции:

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

где a - вес квадрата; b - вес бумажных фигур; c - площадь квадрата; S - площадь листьев.

Интенсивность транспирации вычислите по формуле:

$$I_{mp} = n \cdot 60 \cdot 10000 / S \cdot t,$$

где I_{mp} - интенсивность транспирации, г/м²·ч; n - количество воды, испаренной пробегом за время опыта, г.; S - площадь листьев, см²; t - продолжительность опыта, мин; 60 - коэффициент перевода минут в часы; 10000 - коэффициент перевода см² в м².

Таблица 7 - Определение показателей транспирации

Объект	Время		Продолжительность опыта, мин	Вес, г		Убыль в весе, г	Площадь, см ²	Интенсивность испарения воды, г/м ² ·ч	Относительная транспирация
	начало	конец		исходный	конечный				
Сосуд									
Побег растения									
1									
2									
...									

Чтобы убедиться в том, что транспирация не является простым физическим процессом испарения, поставьте одновременно с определением транспирации опыт по учету свободного испарения. Для этого взвесьте чашку, наполненную почти до краёв водой комнатной температуры (наружная поверхность чашки должна быть совершенно сухой), и через определенное время, например, через 30 мин, сделайте второе взвешивание. Между взвешиваниями сосуд с водой должен находиться в тех же условиях, при которых учитывалась транспирация. Определить испаряющую поверхность, измеряя внутренний диаметр чашки линейкой, и вычислите интенсивность испарения со свободной водной поверхности (E), пользуясь той же формулой, по которой вычислялась интенсивность транспирации.

Доля интенсивность транспирации на интенсивность свободного испарения, можно найти относительную транспирацию.

Задание: определите интенсивность транспирации растений, интенсивность свободного испарения и относительную транспирацию. Результаты запишите в таблицу 7.

3.7 Определение водоудерживающей способности растений методом «завядания» (по Арланду)

В регулировании водообмена растений значительную роль играют водоудерживающие силы, обусловленные в основном содержанием в клетках осмотически активных веществ и способностью коллоидов к набуханию.

Водоудерживающая способность клеток зависит от условий выращивания растений. В частности, большое влияние оказывают условия питания. При оптимальных условиях водоудерживающая способность возрастает, водоотдача за 30 мин составляет лишь 4 – 6 % от исходной величины. Определение водоудерживающей способности по Арланду основано на учете потери воды завядающими растениями.

Цель работы: сравнить водоудерживающую способность листьев растений разных экологических групп.

Материалы и оборудование: штативы, технические весы, ножницы, парафин, подкрашенный Суданом III.

Объекты: листья растений разных экологических групп.

Ход работы. Листья растений осторожно отделяют от стеблей. Затем основание листа покрывают парафином, чтобы исключить его участие в испарении воды. Для этого основание листа опускают в расплавленный парафин, подкрашенный Суданом III, с температурой не выше 50°C.

Таблица 8 - Определение водоудерживающей способности листьев растений

Объект	Масса листа, г				Масса испарившейся H ₂ O, г				Потеря H ₂ O, % к исходной массе				
	исходная	через 20 мин	через 40 мин	через 60 мин	через 80 мин	через 20 мин	через 40 мин	через 60 мин	через 80 мин	через 20 мин	через 40 мин	через 60 мин	через 80 мин
1													
2													
...													

Листья взвешивают на весах, аккуратно расставляют их в штативы и через 20 мин, 40 мин, 60 мин и 80 мин взвешивают повторно. Убыль в массе показывает абсолютное количество воды, потерянной испытуемыми растениями за 20-минутные интервалы.

Используя полученные данные, вычисляют количество испарившейся воды в процентах к испаряющейся массе за последовательные 30-минутные интервалы.

Задание: Изобразить графически динамику водоотдачи, сделать заключение о водоудерживающей способности листьев растений разных экологических групп. Результаты записать по форме таблицы 8.

4 ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО МИНЕРАЛЬНОМУ ПИТАНИЮ РАСТЕНИЙ

4.1 Микрохимический анализ золы растений

В основе микрохимического анализа лежит свойство некоторых солей образовывать характерной формы кристаллы, по которым можно судить о наличии в составе золы того или иного элемента.

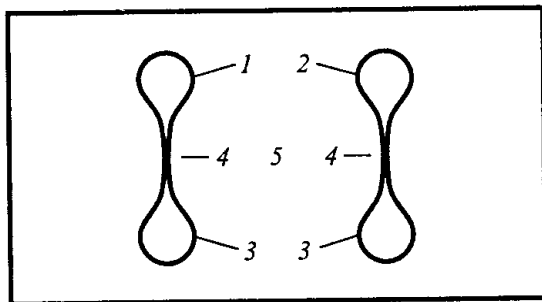
Цель работы: выявить наличие некоторые ионов (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , SO_4^{2-} , Cl^- , PO_4^{3-}) в золе органов растений.

Материалы и оборудование: микроскопы, стеклянные тонкие палочки с оттянутыми концами, предметные стекла, пробирки, воронки, фильтровальная бумага, бумажные фильтры, маркер для стекла, этанол, дистиллированная вода, 10%-ный раствор HCl , 1 %-ные растворы кислот H_2SO_4 , HNO_3 , 1 %-ные растворы солей $NaHC_4H_4O_6$, $K_4[Fe(CN)_6]$, $(NH_4)MoO_4$, $(CH_3COO)_2Pb$, Tl_2SO_4 , смесь следующего состава: 1 г Na_2HPO_4 , 4 г NH_4Cl , 6 г NH_4OH , 2 г лимонной кислоты в 250 мл воды (реактив на магний).

Объекты: зола из заготовленных летом высушенных листьев, стеблей, соцветий, плодов и кусочков древесины различных растений.

Ход работы. Из золы готовят в пробирках два раствора — водный для выявления Cl^- и K^+ и солянокислый для определения всех остальных ионов. Одну вторую часть золы заливают 3 мл дистиллированной воды, перемешивают и отфильтровывают в чистую пробирку. К оставшейся золе прибавляют 3 мл 10% HCl , перемешивают и отфильтровывают раствор в чистую пробирку.

С растворами проделывают все качественные реакции. Появление типичных кристаллов показывает наличие в золе соответствующих элементов. Техника проведения реакции показана на рисунке 3.



- 1 - вытяжка из золы;
 2 - раствор, содержащий обнаруживаемый элемент;
 3 - реактив на обнаруживаемый элемент; 4 - «мостик» между раствором и реактивом;
 5 - предметное стекло

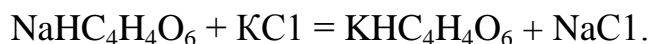
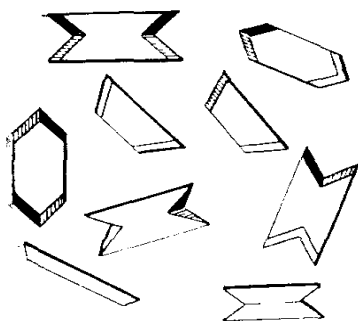
Рисунок 3 - Техника проведения реакции

Для сохранения чистоты реактивов каждый из них берут отдельной стеклянной палочкой. После использования палочки следует тщательно мыть. На разные концы предметного стекла помещают по капле необходимого реактива на ион, который хотят выявить. Рядом с одной из них наносят каплю какой-либо соли, содержащей данный ион, а с другой — каплю солянокислого или водного экстракта золы. Чистой стеклянной палочкой с заостренным концом две соседние капли соединяют перемычками. В результате взаимодействия растворов образуются продукты реакции, которые при медленном подсушивании препарата будут выпадать в осадок с образованием характерных кристаллов. Следует избегать полного перемешивания капель растворов: самые крупные и правильно сформированные кристаллы образуются в тонких перемычках между каплями. Очень важно правильно подсушить препарат. Для этого его держат высоко над пламенем горелки и подогревают до полного испарения воды, слегка перемещая из стороны в сторону. Подсушивание прекращают, как только исчезнет последняя капля жидкости. Кристаллы рассматривают под микроскопом на сухом препарате без покровного стекла, зарисовывают и сравнивают с контрольным вариантом.

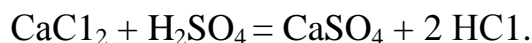
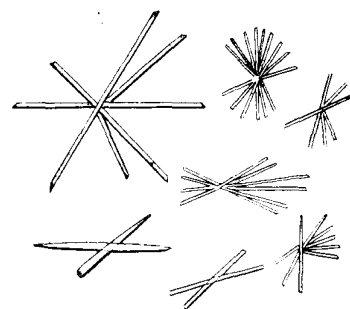
Проделяют все качественные реакции с растворами и с экстрактами золы. Появление типичных кристаллов показывает наличие соответствующих элементов в золе.

Обнаружение ионов калия. Реактивом на ионы калия может быть

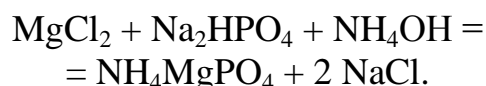
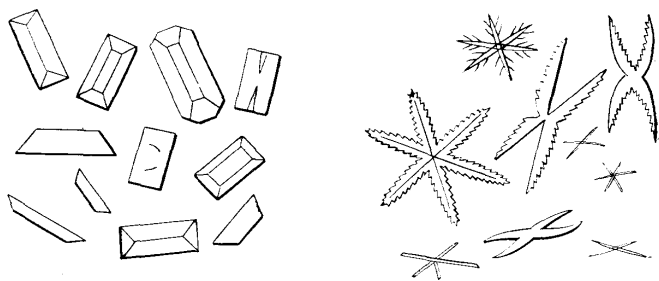
гидротартрат натрия $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$, который с нейтральным раствором солей калия дает осадок гидротартрата калия $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ в виде крупных призм и пластинок. Кристаллы гидротартрата хорошо растворяются в кислотах и щелочах, поэтому для определения иона калия берут водный экстракт:



Обнаружение ионов кальция. Более характерным реактивом на кальций является серная кислота. В результате этой реакции выпадают игольчатые кристаллы гипса $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, которые иногда могут располагаться группами, напоминающими снежинки (рис. 4б):

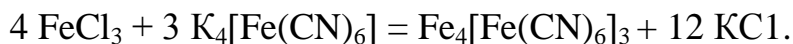


Обнаружение ионов магния. Капли испытуемого раствора и контрольной соли соединяют с реактивом, состоящим из гидрофосфата натрия, хлорида аммония, лимонной кислоты и гидроксида аммония. При медленной кристаллизации выпадают кристаллы фосфата магния-аммония в виде трапеций, призм и октаэдров; при быстрой кристаллизации — в виде звезд, крестов и ветвящихся образований:



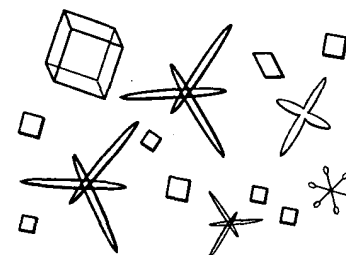
Обнаружение ионов железа. Присутствие в вытяжке ионов железа Fe^{3+} обнаруживают при взаимодействии с гексоцианоферратом (II) калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. В результате образуется интенсивно-синий осадок гексоцианоферрата (II) железа $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$.

Железа в некоторых образцах золы мало, поэтому исходную вытяжку следует нанести на стекло несколько раз и упарить. Наличие ионов железа выявляют по синей окраске:

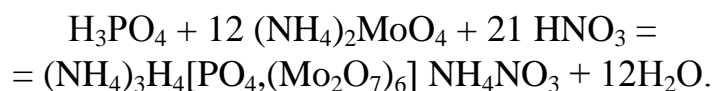


Реакцию на железо можно проводить в пробирке с частью солянокислого экстракта, к которому по каплям прибавляют раствор гексоцианоферрата (II) калия.

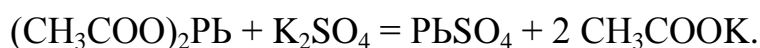
Обнаружение фосфора. Ионы PO_4^{3-} можно обнаружить в растворе при взаимодействии с молибдатом аммония $(\text{NH}_4)\text{MoO}_4$. Каплю раствора фосфорной кислоты, слегка подкисленную азотной кислотой, соединяют с каплей раствора молибдата аммония. В результате выпадают зеленовато-желтые мелкие



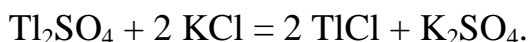
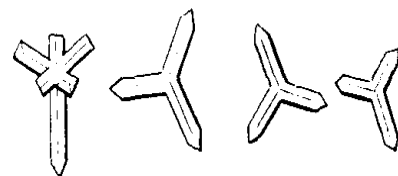
кристаллы сложной комплексной соли :



Обнаружение ионов SO_4^{2-} . в качестве реактива используют раствор ацетата свинца $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$. Выпадают очень мелкие кристаллы сульфата свинца в виде длинных игл, звезд и ромбов:



Обнаружение ионов хлора. Анионы хлора обнаруживают в водном растворе золы сульфтом или нитратом таллия (1). При взаимодействии хлора с одним из этих реактивов выпадают кристаллы хлорида таллия TlCl , в виде крестообразных мечевидных образований черного цвета:



Задание: при оформлении работы записать уравнения реакций и зарисовать характерные формы кристаллов. В выводе отметить какие элементы обнаружены в золе исследованных растений.

4.2 Обнаружение нитратов в растениях

Соли азотной и азотистой кислот, поглощаемые корнями из почвы, восстанавливаются в растении до аммиака, который используется для синтеза аминокислот и других соединений. Для восстановления нитратов требуется АТФ, образующаяся в процессе окислительного или фотосинтетического фосфорилирования. При достаточном содержании растворимых углеводов и высокой активности соответствующих ферментов перечисленные биохимические процессы происходят в клетках корня. Однако при неблагоприятных условиях часть нитратов (нередко весьма значительная) может пройти через паренхиму коры корня в неизменном виде. В этом случае нитраты попадают в сосуды ксилемы и поднимаются с восходящим током к листьям, где и происходит их восстановление.

Определение содержания нитратов в соке, отжатом из стеблей, черешков и пластинок листа, позволяет судить о восстановлении нитратов в корнях: чем меньше в них обнаруживается нитрат-ионов, тем активнее происходит этот процесс в клетках корня. Сопоставление содержания

нитратов в различных органах растения, например в черешках, пластинках листа, корнях, дает представление о нитратредуктазной активности этих органов.

Для обнаружения нитратов можно использовать реактив с дифениламином, который в присутствии иона NO_3^- дает синюю окраску. По интенсивности посинения можно судить о количестве нитратов в исследуемом объекте.

Цель работы: познакомиться с простым и доступным способом определения нитратов в растительном сырье и грамотно оценить их количество.

Материалы и оборудование: раствор KNO_3 или NaNO_3 в концентрациях, мг/л: 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 50, 10 в небольших склянках; 1 %-ный раствор дифениламина в концентрированной H_2SO_4 в капельнице (хранить в темноте на подставке), пинцет, стеклянные палочки, плоские белые фарфоровые тарелки, кусок стекла, фломастер, цветные карандаши, фильтровальная бумага, ножницы, нож, скальпель, бритва.

Объекты: любые растения.

Ход работы. На белую фарфоровую поверхность тарелки или стеклянной пластинки наносят капли контрольных растворов KNO_3 или NaNO_3 , и добавляют одну каплю дифениламина. Заполняют концентрационную шкалу окраски, соответствующую определенному содержанию нитратов.

С помощью этой шкалы количественно оценивают содержание нитратов в растительном материале, сравнивая с ней по цвету опытную пробу.

Взятые для исследования плоды, клубни, корнеплоды, луковицы и т.д. раскладывают на столе, отделяют ткани и части органов для анализа. Сок отжимают на поверхность стекла, под которым лежит лист белой бумаги, или на поверхность тарелки с помощью пинцета или стеклянной палочки. Образцы подписывают фломастером. Одновременно острой бритвой делают срезы изучаемой ткани, органа. На срез и выжатую порцию сока переносят каплю дифениламина. Оценивают количество нитратов согласно данным концентрационной шкалы окраски. Смывая по окончании работы ткани и сок, необходимо помнить о свойствах концентрированной серной кислоты оставлять ожоги при попадании на кожу.

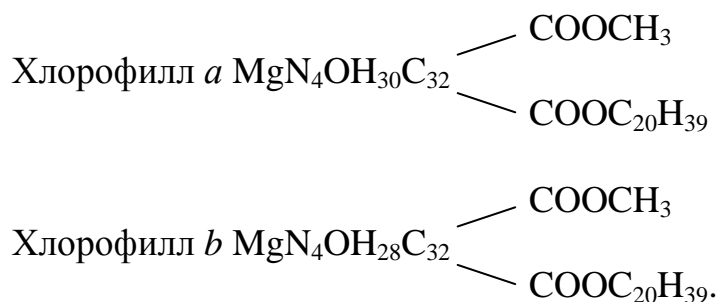
Задание: записать результаты анализа тканей и органов исследуемых растений. Сделать вывод о возможности употребления этих растений в пищу.

5 ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО ФОТОСИНТЕЗУ

5.1 Пигменты фотосинтеза и их свойства

Пигменты фотосинтеза находятся в мембранах тилакоидов. У высших

растений это хлорофиллы *a* и *b*, каротиноиды. Хлорофиллы по своей химической природе являются сложными эфирами дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов — высокомолекулярного одноатомного спирта фитола $C_{20}H_{39}OH$ и метилового спирта CH_3OH и представляют собой фетилметилхлорофиллиды. Хлорофилл *a* отличается от хлорофилла *b* тем, что у третьего углеродного атома во втором пирольном кольце его молекулы метильная группа заменена на альдегидную.



Каротиноиды подразделяются на каротины (ненасыщенные углеводороды с эмпирической формулой $C_{40}H_{56}$) и ксантофиллы, отличающиеся от каротиноидов присутствием кислорода ($C_{40}H_{56}O_2$). Обычно пигменты из растительной ткани извлекают полярными растворителями (этанолом, этиловым эфиром, ацетоном), которые нарушают связь хлорофиллов и каротиноидов с липопротеидами пластид и обеспечивают их полное экстрагирование из живых листьев. Из сухого растительного материала экстракцию ведут с добавлением воды, чтобы нарушить связи с молекулами белка.

Цель работы: ознакомиться с методами экстракции пигментов и с их химическими свойствами.

Материалы и оборудование: ступка с пестиком, воронка, фильтр, штатив с пробирками, стеклянные палочки, 2 колбы на 200 мл, электроплитка, NaOH или KOH в кристаллах, этанол.

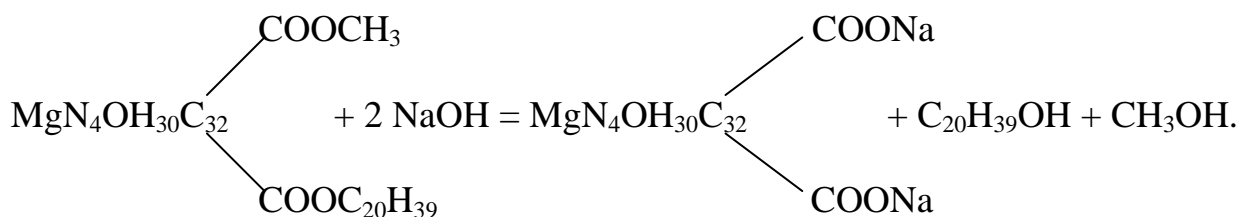
Объекты: зеленые листья любых растений, сухие листья крапивы.

Ход работы. **Получение спиртовой вытяжки из листьев.** Для последующих работ с пигментами растений в основном используют спиртовой экстракт из листьев. Экстракт пигментов в количестве от 3 до 10 мл получают из живых листьев. Навеску листьев в 0,5 - 2 г размельчают и тщательно растирают в ступке с 10 мл спирта, добавляя его несколькими порциями. Осадок пропускают через складчатый бумажный фильтр для ускорения фильтрации. Экстракт пигментов используют в работе.

Омыление хлорофилла щелочью. В пробирку с 2 - 3 мл спиртовой вытяжки пигментов добавляют такой же объем бензина и 2 - 3 капли воды. Закрывают пробкой и сильно встряхивают содержимое в течение 15 – 20 с, после чего пробирку ставят в штатив до начала разделения слоев бензина и спирта.

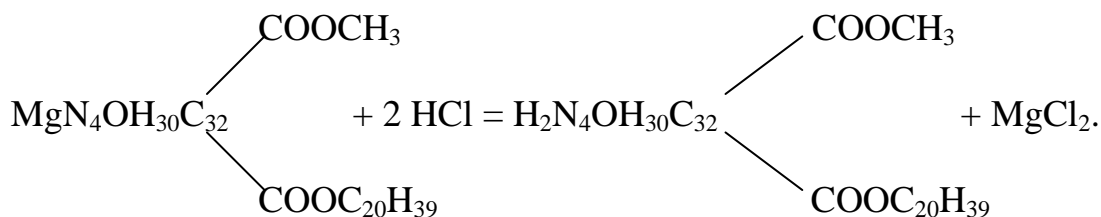
Хлорофилл находится в верхнем бензиновом слое, вследствие чего этот слой окрашивается в зеленый цвет, нижний спиртовой слой — желтый, так как там остается ксантофилл. Затем в пробирку бросают кусочек кристаллической щелочи (KOH или NaOH) и снова сильно встряхивают содержимое до ее растворения. Дают смеси жидкостей расслоиться, и полученная соль хлорофиллиновой кислоты переходит в нижний спиртовой слой, спиртовой слой становится зеленым. В верхнем бензиновом слое остается желтый пигмент каротин.

Обработка хлорофилла щелочью вызывает омыление эфирных связей, т. е. отщепление остатков метилового спирта и фитола:

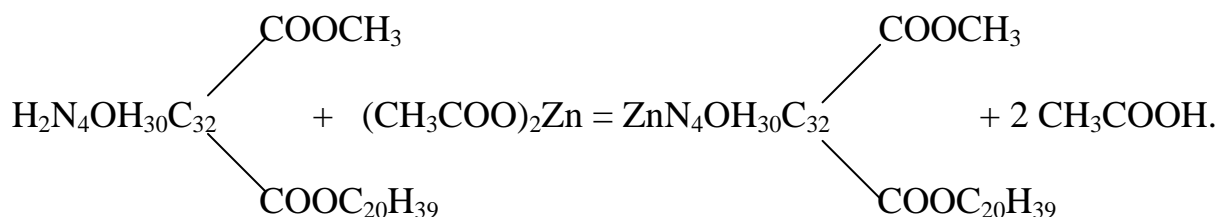


Образующаяся при этом соль хлорофиллиновой кислоты сохраняет зеленую окраску, но отличается от хлорофилла большей гидрофильностью.

Получение феофитина и обратное замещение в нем водорода атомом металла. В три пробирки отливают по 2 мл спиртовой вытяжки пигментов. Одну пробирку оставляют для контроля. В двух других приготавливают феофитин. Для этого в пробирки добавляют по 2 - 3 капли 10%-ной соляной кислоты или в пробирки с растворами пигментов погружают стеклянные палочки, смоченные в концентрированной соляной кислоте. При этом окраска вытяжки становится бурой, так как хлорофилл превращается в феофитин:



Одну пробирку с феофитином оставляют для сравнения, а в другой феофитин переводят в металлозамещенный хлорофилл, добавляя в нее 2 - 3 кристаллика ацетата цинка или ацетата меди, затем подогревают. Зеленый цвет пигмента восстанавливается. В этом случае ионы металла (цинка или меди) вытесняют водород в молекуле феофитина и занимают центральное положение в его молекуле, образуя очень стойкое соединение — металлозамещенный хлорофилл:



***Задание:** записать уравнения реакций получения щелочной соли хлорофиллина и металлозамещенного хлорофилла. Сравнить по цвету пробирки с растворами хлорофилла и металлозамещенного хлорофилла, закрыть их пробками, снабдить этикетками и оставить в штативе на свету. Через неделю сделать выводы о стойкости хлорофилла и металлозамещенного хлорофилла, отмечая изменения цвета раствора.*

5.2 Разделение смеси фотосинтетических пигментов

Один из первых методов разделения пигментов был предложен немецким ученым Краусом в 1860 г. Он основан на разной растворимости пигментов в спирте и бензине. Эти растворители не смешиваются при сливании и образуют два слоя: верхний — бензиновый, где растворены хлорофиллы и каротин, и нижний — спиртовой, где растворен ксантофилл.

***Цель работы:** ознакомиться с методом Крауса, получить растворы каротина и ксантофилла.*

***Материалы и оборудование:** штатив с пробирками, этанол, NaOH или KOH кристаллические, бензин, колба Бунзена со стеклянным фильтром, водоструйный насос, ступка с пестиком.*

***Объекты:** листья любых растений или спиртовой экстракт из листьев, полученный в работе 5.1.1.*

***Ход работы.** В пробирку с 3 – 5 мл спиртового раствора пигментов добавляют такое же количество бензина и одну каплю воды (для лучшего отделения спирта от бензина). Пробирку хорошо взбалтывают и дают смеси пигментов отстояться. Происходит расслоение жидкости: в верхний, бензиновый, слой, переходят оба хлорофилла и каротин, в нижнем, спиртовом, слое остается желтый пигмент — ксантофилл, так как он лучше, чем бензин, растворим в спирте.*

Для отделения каротина от хлорофилла верхний бензиновый слой пипеткой переносят в чистую пробирку. В этой зеленой вытяжке каротин незаметен, так как его маскирует хлорофилл, преобладающий количественно. В пробирку добавляют 2 мл этилового спирта и 3 - 4 капли воды, вносят несколько кристалликов щелочи и сильно встряхивают. При взаимодействии щелочи с хлорофиллом происходит его омыление, образуется щелочная соль хлорофиллина, которая легко переходит из бензина в спирт. В результате в

пробирке образуются два слоя: верхний, бензиновый, слой — желтого цвета с содержанием каротина и нижний, спиртовой, — зеленого цвета, содержащий щелочную соль хлорофиллина.

Задание: зарисовать пробирки с разделенными пигментами; сделать выводы о растворимости пигментов в различных растворителях и способах выделения индивидуальных пигментов.

5.3 Оптические свойства пигментов зеленого листа

Для пигментов листа, как и для всех пигментов вообще, характерно избирательное поглощение лучей света. Хлорофилл поглощает красные и сине-фиолетовые лучи, каротиноиды поглощают только сине-фиолетовые лучи. Для определения того, какие лучи поглощает пигмент, пользуются спектроскопом. Он имеет три тубуса, расположенные в одной плоскости и сходящиеся в камере со стеклянной призмой. Один из тубусов с наружного конца имеет узкую щель, через которую луч света падает на призму, разлагающую его в спектр — набор лучей с разной длиной волн. Спектр рассматривают с помощью второго тубуса, в который вставлен окуляр. В третий тубус вставляется шкала с указанием длины волн в нанометрах — от 800 до 400 нм. При освещении щели спектроскопа лампой или другим источником через второй тубус можно наблюдать спектр излучения источника света. Чем уже щель спектроскопа, тем полнее происходит разделение света на составляющие его лучи. Однако при сужении щели интенсивность этих лучей уменьшается. Ее можно увеличить, расширяя щель, но при этом зоны разных лучей начинают накладываться друг на друга, снижая чистоту спектра.

Для определения, какие именно лучи поглощает пигмент, нужно кювету с раствором пигмента поставить перед щелью спектроскопа, через которую проходят лучи от источника света. На месте лучей, поглощаемых молекулами пигмента, в спектре излучения источника света появляются темные полосы. Чем полнее поглощаются лучи, тем темнее полоса. Этот спектр с темными полосами на месте поглощенных лучей и называется спектром поглощения пигмента. Наиболее темные полосы в зонах поглощения соответствуют максимумам поглощения. Ширина полос поглощения зависит от количества молекул пигмента в слое раствора, через который проходит луч света, попадающий в щель спектроскопа. Количество молекул увеличивается при увеличении концентрации раствора пигмента или при увеличении толщины слоя его раствора. Положение максимумов поглощения может смещаться и за счет взаимодействия отдельных молекул пигмента между собой или с белками.

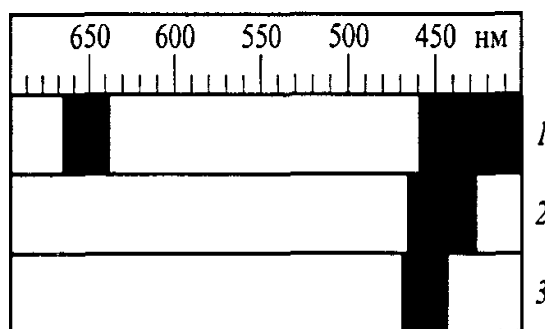
5.3.1 Спектры поглощения пигментов листа

Цель работы: исследовать оптические свойства пигментов листа.

Материалы и оборудование: концентрированная спиртовая вытяжка пигментов, растворы каротина и ксантофилла, этанол, спектроскоп, два осветителя, набор кювет разной ширины с плоскопараллельными стенками, ступка с пестиком, пробирки, воронка, бумажный фильтр, медицинский шприц, дистиллированная вода, пинцеты.

Объекты: листья комнатных растений.

Ход работы. Налаживают освещение щели и шкалы спектроскопа так, чтобы спектр излучения совпадал со шкалой длины волн. Этот спектр зарисовывают цветными карандашами и отмечают длину волны разных его участков. Затем наливают спиртовой раствор пигментов в кювету и устанавливают ее перед щелью спектроскопа. Спектр поглощения хлорофилла рассматривают и зарисовывают, точно указывая длины волн поглощаемых лучей. Полосы поглощения — более узкую в красной части спектра и довольно широкую в сине-фиолетовой части — заштриховывают черным карандашом. Рассматривают и зарисовывают спектры поглощения каротина и ксантофилла (рисунок 4). Для этого используют растворы пигментов, полученные в работе 4.2.1.



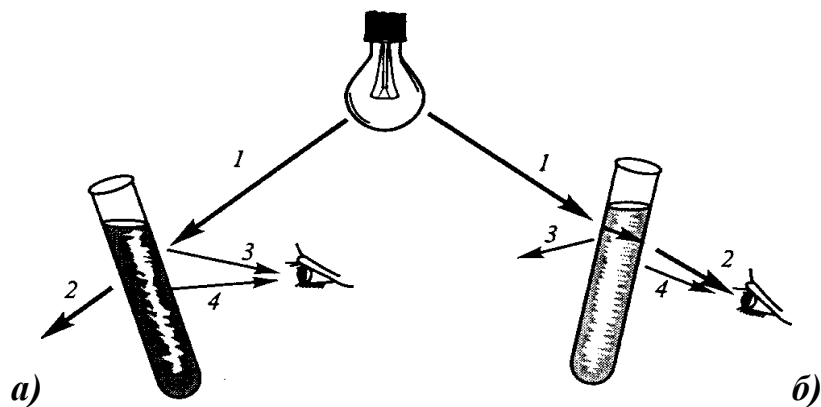
1 — хлорофиллы *a* и *b*;
2 — каротин;
3 — ксантофилл

Рисунок 4 – Спектры поглощения пигментов

Задание: сделать выводы о характере поглощения лучей пигментами.

5.3.2 Наблюдение флуоресценции хлорофилла.

Флуоресценция хлорофилла — испускание возбужденной молекулой хлорофилла света с длиной волны, большей, чем длина волны света, возбуждающего 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 5). Независимо от длины волны возбуждающего света хлорофилл флуоресцирует только красным светом.



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 5 - Спиртовая вытяжка хлорофилла в отраженных (а) и проходящих лучах (б)

Цель работы: наблюдать флуоресценцию хлорофилла.

Материалы и оборудование: электрическая лампа, штатив, пробирка, ступка, пестик, 5 мл этанола.

Объекты: зеленые листья любых растений.

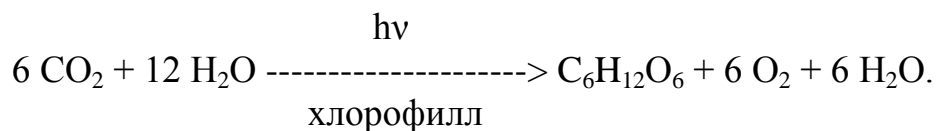
Ход работы. Листья растений (1 г) размельчают в ступке с 5 мл этилового спирта. Содержимое наливают в пробирку через воронку с бумажным фильтром.

Рассматривают раствор пигментов в пробирке или колбе в отраженном свете настольной лампы (рисунок 5). Отмечают красную флуоресценцию спиртовой вытяжки листа, которая содержит все пигменты. Рассматривают спиртовую вытяжку листа в проходящем свете, отмечают ее зеленую окраску, обусловленную присутствием хлорофилла. В проходящем свете красная флуоресценция не видна, так как интенсивный проходящий свет маскирует ее.

Задание: сделайте вывод о наличии флуоресценции у хлорофилла. Опишите способ наблюдения флуоресценции и цвет раствора хлорофилла в проходящем и отраженном свете.

5.4 Обнаружение процесса фотосинтеза

Исходя из суммарного уравнения фотосинтеза:



можно сделать вывод о том, что обнаружить процесс фотосинтеза можно или по поглощению CO_2 или по выделению кислорода, по накоплению углерода в листьях.

5.4.1 Обнаружение выделенного при фотосинтезе O_2 с помощью метиленового синего

Известный краситель — метиленовый синий (МС) способен к окислительно-восстановительным превращениям, он может быть как акцептором ионов водорода, так и их донором.

В основе данного опыта лежит свойство метиленового синего давать бесцветное соединение при воздействии восстановителя Na_2SO_3 и переходить снова в окрашенное соединение при воздействии окислителей H_2O_2 или O_2 .

Цель работы: доказать, что растение на свету выделяет O_2 .

Материалы и оборудование: высокие пробирки или цилиндры, концентрированный раствор метиленового синего в спирте, насыщенный раствор Na_2SO_3 , 3%-ный H_2O_2 , настольная лампа 100 W.

Объекты: элодея, валлиснерия, роголистник.

Ход работы. В три пробирки наливают водопроводную воду и подкрашивают метиленовым синим до ярко-голубой окраски, а затем добавляют по каплям Na_2SO_3 до обесцвечивания всех трех растворов. Во вторую пробирку наливают пероксид водорода до изменения цвета снова в ярко-голубой, а в третью помещают растение. Все пробирки выставляют на свет и наблюдают за тем, как изменяется в них цвет раствора. Температура среды 26°C .

Задание: опишите опыт; зарисуйте пробирки; объясните причину изменения цвета в пробирках.

5.4.2 Получение отпечатков на листьях с помощью крахмальной пробы

Эта работа наглядно показывает, что при фотосинтезе на свету в листе образуется органическое вещество в виде крахмала, а также доказывает необходимость света в этом процессе. Работу можно проводить в условиях открытого грунта и на комнатных растениях.

Цель работы: показать, что в листьях на свету в процессе фотосинтеза синтезируется крахмал.

Материалы и оборудование: этанол, раствор йода в йодиде калия, водяная баня, газовая горелка или электроплитка, колба коническая, тарелка, лампа на 100 - 200 W, плотная бумага, фольга, канцелярские скрепки, стеклянная банка, стеклянные пластинки (2 шт.), нитки, фотонегативы, трафареты с вырезанными фигурами, пинцет, клейкая лента.

Объекты: гортензия, пеларгония, колеус, герань, примула, подсолнечник,

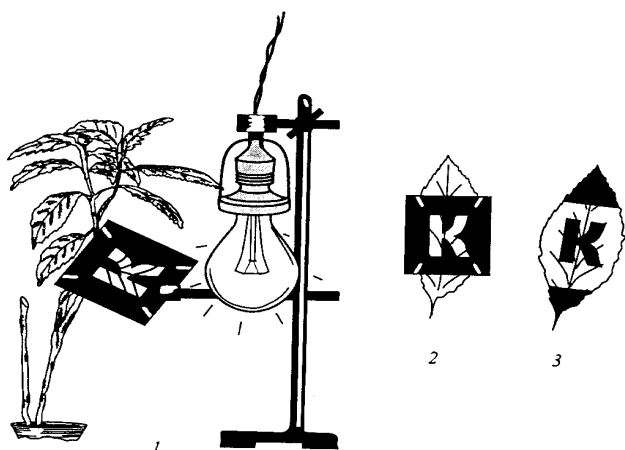
настурция, табак, сахалинская гречиха, одуванчик и т.д.

Ход работы. При подготовке листьев к опыту комнатные растения переносят в темный шкаф на двое суток (не забывая о поливе), чтобы произошел отток крахмала из клеток листа или чтобы он был израсходован на процессы метаболизма.

Через сутки бумагу заменяют трафаретом с вырезанным отверстием. Трафарет делают из сложенного вдвое листа плотной бумаги или фольги с какой-либо вырезанной фигурой (рисунок 6). Накладывая его на лист, надо следить, чтобы очертания фигуры на верхней и нижней сторонах листа совпадали, затем трафарет осторожно прикрепляют.

Экспозиция на свету может длиться от 2 до 8 ч (в зависимости от вида растения и интенсивности освещения). Зимой в помещении в качестве источника света устанавливают лампу 100 - 200 W на расстоянии 60 - 70 см от листа.

По окончании экспозиции на свету листья срезают, снимают с них трафарет, погружают на 2 - 3 мин в кипяток, чтобы убить ткани, а затем в горячий спирт для извлечения пигментов. Колбу со спиртом и листьями помещают в водяную баню с кипящей водой и выдерживают в горячем спирте до полного извлечения пигментов из листьев и их обесцвечивания.



1 — освещенное растение;
2 — лист, закрытый трафаретом;
3 — отпечаток (крахмальная проба) на листе

Рисунок 6 - Получение отпечатков на листьях с помощью крахмальной пробы

В спирте происходит сильное обезвоживание листа, он становится жестким и легко ломается. Поэтому спирт сливают, а в колбу наливают воду, лист становится мягким, затем его переносят в кювету или в тарелку с раствором йода в йодиде калия. Постепенно на освещавшихся участках листа появляется темная фигура, соответствующая трафарету.

Задание: опишите опыт и методику проявления «отпечатков», зарисуйте листья, сделайте вывод о том, в какой части листа произошел синтез крахмала.

5.4.3 Накопление первичного (ассимиляционного) крахмала в клетках листьев C_3 - и C_4 -растений

Растения, у которых первый стабильный продукт фотосинтеза представлен трехуглеродной фосфоглицериновой кислотой (ФГК), принято называть C_3 -растениями. Синтез сахаров в фотосинтезе осуществляется у них в цепи реакций, образующих цикл Кальвина. У C_3 -растений во всех фотосинтезирующих клетках функционирует цикл Кальвина и поэтому во всех клетках листа образуется крахмал. У C_4 -растений первичная ассимиляция CO_2 осуществляется и в цикле Хетча-Слека в клетках мезофилла листа. Первыми продуктами этого цикла являются четырехуглеродные органические кислоты, поэтому такие растения принято называть C_4 -растениями. Цикл Кальвина функционирует у них только в клетках обкладки проводящих пучков листа. Поэтому крахмал образуется только в этих клетках, но не в клетках мезофилла.

Цель работы: на срезах листовых пластинок выявить клетки, в которых у C_3 - и C_4 -растений находятся хлоропласты, накапливающие крахмал.

Материалы и оборудование: микроскопы, осветители, предметные и покровные стекла, лезвия безопасной бритвы, стакан с водой, препаровальные иглы, стеклянные палочки, фильтровальная бумага, кусочки пенопласта или бузины, раствор Люголя, 30%-ный раствор NaOH или KOH.

Объекты: листья кукурузы и любых C_3 -растений.

Ход работы. Продольные и поперечные срезы листьев кукурузы и C_4 -растений (хлорофитума, традесканции и др.) делают острым лезвием безопасной бритвы. Для получения поперечных срезов используют кусочки бузины или пенопласта. Срезы помещают на предметное стекло в каплю 30%-ного раствора KOH или NaOH для их просветления. Через 10 - 15 мин, а если позволяет время, то и более (до 1,5 ч), щелочь «отсасывают» фильтровальной бумагой, промывают водой и добавляют каплю раствора Люголя. Затем срезы накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом сначала при малом увеличении, а затем при большом.

Изучая срезы, обращают внимание на локализацию крахмала в клетках листа. У кукурузы крахмал локализуется в клетках обкладки проводящих пучков и в клетках устьиц. В остальных клетках мезофилла, расположенных между жилками, крахмала нет. Поэтому на продольном срезе проводящие пучки с обкладкой четко выделяются как темные полосы, а на поперечном срезе клетки обкладки выглядят в виде темной короны (так называемая «kranz»-анатомия), окружающей неокрашенные ткани ксилемы и флоэмы.

В листьях C_3 -растений крахмал находится во всех клетках мезофилла, а также в замыкающих клетках устьиц. Неокрашенными остаются только клетки эпидермы и сосудистые пучки.

Задание: сделать рисунки продольных и поперечных срезов листьев C_3 - и C_4 -растений. Отметить локализацию крахмала в тканях листьев. Объяснить причину разной локализации крахмала у C_3 - и C_4 -растений.

6 ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО ДЫХАНИЮ РАСТЕНИЙ

6.1 Поглощение кислорода и выделение углекислого газа при дыхании органов растений

Цель: доказать, что при дыхании органов растений поглощается кислород и выделяется углекислый газ.

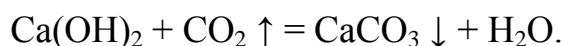
Материалы и оборудование: колбы объемом на 100 – 300 мл, пробирки, пробки, марля, нитки, ножницы, спиртовка, спички, лучина, прокипяченная вода комнатной температуры, известковая вода.

Объекты: проросшие семена или проростки гороха, фасоли, бобов, пшеницы, кукурузы.

Ход работы: **Поглощение кислорода при дыхании органов растений.** На дно одного из сосудов наливают прокипяченную воду комнатной температуры и помещают необходимое количество проросших семян или проростков растений. Затем воду сливают оставляя примерно 3 – 5 мл. Во второй сосуд наливают столько воды сколько было оставлено в опытном сосуде. Оба сосуда закрывают пробками и ставят рядом в темное место.

Через два часа в сосуды опускают зажженные лучины. Наблюдают за результатами опыта.

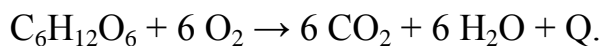
Выделение углекислого газа при дыхании органов растений. В одну из пробирок наливают прокипяченную воду комнатной температуры. Проросшие семена или проростки растений помещают в марлевый мешочек, который опускают в пробирку. Воду из пробирки сливают и закрывают пробкой. Вторую пробирку споласкивают водой и закрывают пробкой. Пробирки помещают в темное место на 24 часа. После чего из первой пробирки удаляют марлевый мешочек с проросшими семенами или проростками растений и в обе пробирки наливают гидроксид кальция, встряхивают. Отмечают в какой из пробирок наблюдается помутнение в следствии образования карбоната кальция:



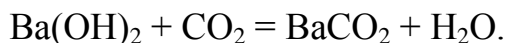
Задание: опишите технику проведения опытов, объясните полученные результаты.

6.2 Определение расхода органического вещества растениями при дыхании

Все живые организмы получают энергию для поддержания своей жизнедеятельности с помощью дыхания. В этом процессе синтезированные в клетках в процессе фотосинтеза органические вещества окисляются с высвобождением энергии:



Метод определения интенсивности дыхания у растений основан на учете количества выделяемого растениями углекислого газа, который поглощается баритом:



Избыток барита, не прореагировавшего с CO_2 , оттитровывают соляной кислотой:

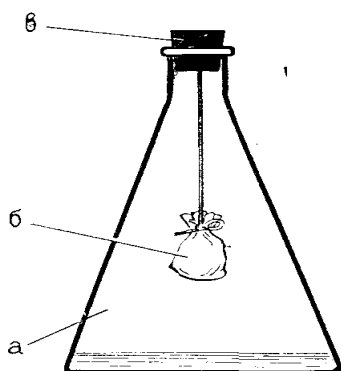


Цель работы: определить интенсивность дыхания листьев растений разных экологических групп.

Оборудование и материалы: широкогорлые конические колбы емкостью 250 мл, резиновые пробки, весы, бюретки с раствором $\text{Ba}(\text{OH})_2$ и пробкой сверху, в которую вставлена трубка с натронной известью, 0,1 н раствор $\text{Ba}(\text{OH})_2$; 0,1 н раствор HCl ; 1%-ный раствор фенолфталеина в капельнице, марлевые мешочки.

Объекты: листья растений.

Ход работы. В опытные и контрольные колбы наливают по 10 мл 0,1 н раствора $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Навеску испытуемого материала по 2 - 3 г и помещают в марлевый мешочек. Мешочек опускают на нитке в колбу так, чтобы он не касался раствора щелочи. Свободный конец нитки укрепляют в колбе с помощью пробки (рисунок 7). Опытные и контрольные колбы на 1 ч помещают в темное место для исключения фотосинтеза и идентичности всех колб.



a - колба со щелочью;
b - марлевый мешочек с растением;
v - пробка

Рисунок 7 - Прибор для определения дыхания

В течение опыта следует периодически осторожно покачивать колбы, чтобы разрушить пленку BaCO_3 , образующуюся на поверхности барита и препятствующую полноте поглощения CO_2 .

Через один час приоткрывают пробку и быстро извлекают из колб материал. В каждую колбу добавляют по 2 - 3 капли фенолфталеина. Еще раз

взбалтывают содержимое колбы и проводят титрование щелочи 0,1 н НС1 до обесцвечивания жидкости. Разность между объемом раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование щелочи в контрольных и опытных колбах показывает, какое количество углекислого газа выделено исследуемым растением за время опыта. Результаты записывают в таблицу 9.

Таблица 9 - Интенсивность дыхания растений

Исследуемый объект	Навеска, г	Время		Продолжительность опыта, мин	Количество 0,1 н НС1, пошедшее на титрование, мл	Интенсивность дыхания, мг СО ₂ /г·ч
		начало опыта	конец опыта			

Интенсивность дыхания рассчитывают по формуле:

$$ИД = (a - b) \cdot 2,2 \cdot 60 / p \cdot t,$$

где a - количество 0,1н НС1, израсходованное на титрование контрольных колб, мл; b - количество 0,1 н НС1, израсходованное на титрование опытной колбы, мл; 2,2- количество СО₂, соответствующее 1 мл 0,1 н НС1, мг; p - навеска листьев, г; t - продолжительность опыта, мин; 60 - коэффициент для перевода минут в час.

Задание: определите, какие растения обладают большей интенсивностью дыхания. Почему?

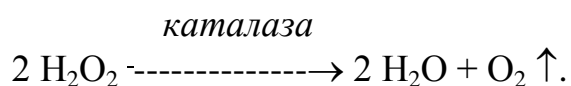
6.3 Ферменты дыхания

Окислительно-восстановительные реакции дыхания осуществляются с участием большого набора ферментов, которые принято делить на три группы: дегидрогеназы (активируют водород), оксидазы (активируют кислород) и ферменты – промежуточные переносчики водорода (электрона).

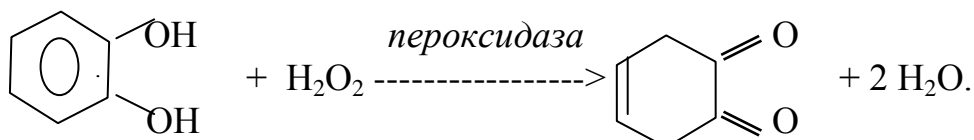
Дегидрогеназы катализируют окисление - отщепление водорода от дыхательного субстрата и перенос его к промежуточным или конечным акцепторам водорода. Дегидрогеназа осуществляет перенос протонов от окисляемого субстрата на метиленовый синий в результате чего происходит его обесцвечивание.

В процессе дыхания в качестве побочного продукта окисления веществ образуется перекись водорода, оказывающая в высоких концентрациях токсическое действие на цитоплазму. Обезвреживание перекиси происходит

при участии фермента каталазы, разлагающей её на воду и на молекулярный кислород по уравнению:



Пероксидаза – фермент, катализирующий окисление циклических полифенолов и некоторых ароматических аминов с помощью кислорода, перекиси водорода или органических перекисей:



Пероксидаза образует с перекисью водорода комплексное соединение, в результате чего перекись активируется и приобретает способность действовать как акцептор водорода. Обнаружение пероксидазы в соке клубня картофеля основано на изменении окраски при окислении полифенолов в хиноны.

Цель работы: обнаружить действие ферментов: дегидрогеназы, каталазы, пероксидазы, участвующих в процессе дыхания.

Материалы и оборудование: 5 % раствор сахарозы, 3 % раствор H_2O_2 , 1% раствор гидрохинона, метиленовая синь, конические колбы, пробирки, пипетки на 1 мл и 10 мл, водяная баня, термометр, стеклянная палочка, марля, терка

Объекты: дрожжи, клубень картофеля.

Ход работы: **Обнаружение дегидрогеназы.** За 1 час до начала опыта готовят бродящую жидкость (1 г дрожжей растворяют в 100 мл 5% раствора сахарозы).

Две пробирки наполняют на $\frac{2}{3}$ объема бродящей жидкостью. Содержимое одной пробирки кипятят в течение 5 мин на водяной бане, затем охлаждают.

В пробирки добавляют по 3 капли метиленового синего. Растворы встряхивают и ставят в водяную баню при температуре + 40 – 50°C. Следят за изменением окраски в обеих пробирках.

Обнаружение каталазы. Очищенный сырой картофель натирают на терке и отжимают сок через марлю в колбу. В пробирку с раствором H_2O_2 вносят несколько капель сока клубня картофеля. Наблюдают вспенивание вследствие выделения молекулярного кислорода.

Обнаружение пероксидазы. Очищенный сырой картофель натирают на терке и отжимают через марлю сок в колбу. В первую пробирку наливают 5 мл 1% раствора гидрохинона, 1 мл 3 % раствора H_2O_2 и 1 мл сока клубня картофеля. Во вторую пробирку наливают 5 мл 1% раствора гидрохинона, 1 мл 3 % раствора H_2O_2 . В третью пробирку наливают 5 мл 1% раствора

гидрохинона и 1 мл сока клубня картофеля. Наблюдают, в каких пробирках происходит побурение содержимого.

Задание: проделайте опыты, сделайте выводы.

7 ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ УСЛОВИЯМ СРЕДЫ

7.1 Определение защитного действия сахаров на протоплазму

При воздействии отрицательных температур на растительные ткани в межклетниках образуется лед, который, оттягивая воду из клеток, обезвоживает протоплазму. При определенной степени обезвоживания, индивидуальной для каждого растительного организма, протоплазма коагулирует. 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: проследить защитное действие сахарозы на протопласты клеток при действии пониженных температур.

Материалы и оборудование: 0,5 и 1 М раствора сахарозы, поваренная соль, лед колотый или снег, термометры до 30°C, скальпели, пробочные сверла диаметром 6 мм, бритвы, пробирки, микроскопы, предметные стекла, кисточки, карандаши по стеклу, фильтровальная бумага, лопатки для охладительной смеси.

Объекты: корнеплод свеклы.

Ход работы. Из поперечного среза красной столовой свеклы толщиной 0,5 см при помощи пробочного сверла диаметром 5 - 6 мм делают высечки. Тщательно ополаскивают их водой и помещают в три пробирки по три-четыре высечки в каждую. В первую пробирку наливают 5 мл дистиллированной воды, во вторую - 0,5 мл 0,5М раствора сахарозы, в третью - 5 мл 1М раствора сахарозы. Пробирки этикетировывают и на 20 мин погружают в охладительную смесь, состоящую из трех частей льда или снега и одной части поваренной соли. Затем пробирки вынимают из охладительной смеси и размораживают в стакане воды комнатной температуры.

Задание: отметьте различия в интенсивности окрашивания жидкостей в пробирках и объясните их. Из дисков сделайте тонкие срезы и рассмотрите их под микроскопом при малом увеличении в капле того же раствора, в котором они находились. Подсчитайте общее количество клеток в одном поле зрения и число клеток обесцвеченных, из которых вышел антоциан.

Результаты опыта записывают по форме таблицы.

7.2 Защитное действие сахара на белки протоплазмы при отрицательных температурах

При действии экстремальных температур белки коагулируют. Выпадение хлопьевидного осадка белка из вытяжки растительной ткани является показателем ее повреждения. Сахароза стабилизирует нативную структуру белка тем самым защищая его от губительного действия отрицательных температур.

Цель работы: выявить защитное действие сахарозы на белки протоплазмы при отрицательных температурах

Материалы и оборудование: Клубни картофеля, 0,5 М и 1 М растворы сахарозы, снег и поваренная соль, терки, марля, конические колбы, пробирки, пипетки на 10 мл, чашки для охлаждающей смеси, термометры до 30°C.

Ход работы. Очищенный клубень картофеля натирают на терке, переносят на двойной слой марли и отжимают через нее сок в коническую колбу и дают отстояться крахмалу. Надосадочную жидкость наливают в три пробирки по 2,5 мл в каждую. В первую пробирку добавляют 2,5 мл дистиллированной воды, во вторую — 2,5 мл 0,5 М сахарозы, в третью — 2,5 мл 1 М сахарозы. Перемешивают содержимое в пробирках и ставят в охлаждающую смесь на 20 мин (см. работу 7.1). Оттаивают пробирки в стакане с водопроводной водой и, не встряхивая, наблюдают образование хлопьев коагулировавшего белка.

Задание: пробирки зарисовать, сделать выводы о защитном действии сахарозы при замерзании растительных тканей.

7.3 Определение устойчивости растений к высоким температурам

Принцип метода предложен Ф.Ф. Мацковым и основан на установлении порога повреждения живых клеток от экстремальных температур. Если подвергнуть листья действию высокой температуры, а затем погрузить в слабый раствор соляной кислоты, то поврежденные и мертвые клетки побуреют вследствие свободного проникновения в них кислоты, которая вызовет превращение хлорофилла в феофитин (бурого цвета), тогда как неповрежденные клетки останутся зелеными. У растений, имеющих кислый клеточный сок, феофитинизация может произойти и без обработки соляной кислотой, т.к. при нарушении полупроницаемости тонопласта органические кислоты проникают из клеточного сока в цитоплазму и вытесняют магний из молекулы хлорофилла.

Цель работы: установить температурный порог повреждения живых клеток листьев растений разных экологических групп.

Оборудование и материалы: водяная баня, термометр, пинцет, чашки

Петри (5 шт.), стакан с водой, тонкая проволока, карандаш по стеклу, 10% HCl.

Объекты: свежие листья растений.

Ход работы. Перед занятием нагревают водяную баню до 40°C, в самом начале занятия погружают в нее пучок из 5 одинаковых листьев исследуемых растений. Выдерживают листья в воде в течение 30 мин, поддерживая температуру на уровне 40°C. Затем берут первую пробу (по одному листу) каждого вида растений и опускают в чашку Петри с холодной водой. После охлаждения лист пинцетом перенесут в чашку с соляной кислотой.

Поднимают температуру в водяной бане до 50°C и через 10 мин после этого извлекают из нее еще по одному листу, повторив операцию и перенеся охлажденный в воде лист в новую чашку Петри с HCl. Так постепенно доводят температуру до 80°C, беря пробы через каждые 10 мин при повышении температуры на 10°C.

Через 20 мин после погружения листа в HCl учитывают степень повреждения по количеству бурых пятен. Результаты записывают в таблицу 10, обозначив отсутствие побурения знаком «-», слабое побурение «+», побурение более 50% площади листа «++» и сплошное побурение «+++». Записать результаты по разным растениям в общую таблицу.

Задание: постройте ряд термостойкости растений по степени убывания. Сделайте соответствующие выводы.

Таблица 10 - Степень повреждения листьев в зависимости от температуры

Объект	Степень повреждения листьев				
	40 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
1					
2					
...					

7.4 Определение температурного порога коагуляции белков цитоплазмы клеток разных растений

Клетки разных растений имеют неодинаковую устойчивость к повышенным температурам. Температура, при которой в течение 10 мин полностью коагулируют белки цитоплазмы, считается условной границей жаростойкости растений. Гибель клеток устанавливается по потере ими способности плазмолизировать.

Цель работы: определение температурного порога коагуляции белков цитоплазмы клеток разных растений.

Оборудование и материалы: микроскоп, стаканы химические большие (6 шт.), пробирки (5 шт.), большая колба, электроплитка, термометр, острая

бритва, препаровальная игла, кисточка, предметные и покровные стекла, фильтровальная бумага, карандаш по стеклу, 1 М раствор NaCl, 0,02%-ный раствор «нейтрального красного».

Объекты: свежие листья разных растений.

Ход работы. Острой бритвой делают по 12 срезов эпидермиса листьев разных растений, опускают по два среза в пробирки, в которые налито небольшое количество водопроводной воды.

Нагревают в большой колбе воду. Смешивая горячую воду с холодной, в шести химических стаканах готовят водяные бани с температурой 48, 50, 52, 54, 56 и 58°C. Погружают одновременно в водяные бани пробирки со срезами, поддерживая установленную температуру путем осторожного подливания в стаканы горячей воды. Через 10 мин извлекают срезы из пробирок, перенесут на предметные стекла, снабженные надписями (если клетки не содержат пигмента, следует их окрасить, выдержав в растворе «нейтрального красного» в течение 10-15 мин), на срезы наносят по капле 1М раствора NaCl, закрывают покровными стеклами и через 15-20 мин рассматривают в микроскоп. Заполняют таблицу 11, обозначив знаком «+» плазмолиз у клеток и знаком «-» его отсутствие. Наличие плазмолиза показывает, что клетки живые, отсутствие – мертвые.

Таблица 11 - Влияние температуры на степень плазмолиза в клетках растений

Объект	Температура, °С					
	48	50	52	54	56	58
1						
2						
...						

Задание: сравните жаростойкость различных растений.

7.5 Определение устойчивости растений к засолению

На территории нашей страны и сопредельных государств встречаются засоленные почвы, которые особенно характерны для засушливых районов. Это почвы, содержащие в своем профиле легкорастворимые соли (NaCl, Na₂SO₄, Na₂CO₃, MgCl₂, MgSO₄), в токсичных количествах. Влияние таких солей на растения является мощным экологическим фактором, сдерживающим их нормальный рост и развитие.

Цель работы: определить влияние засоления на растения разных экологических групп.

Оборудование и материалы: большие пробирки или цилиндры на 100 мл, штативы к пробиркам, мерные пробирки или цилиндры, весы, разновесы, острая бритва, соли NaCl, Na₂CO₃, вода.

Объекты: веточки разных растений с 3-4 одинаковыми небольшими листьями.

Ход работы. Приготавливают серию растворов разных солей (NaCl, Na₂CO₃): 1, 3, 5, 7, 10, 20 %. Наливают равное количество этих растворов в большие пробирки. Контролем служит вода. Ветви растений взвешивают и уравнивают. Сосуды изолируют от испарения воды фольгой и оставляют на семь дней. Через 7 дней оценивают состояние растений (потеря тургора, появление некрозов, изменение листовой пластинки) и измеряют объем поглощенной воды.

Задание: выявите, какая из солей наиболее сильно влияет на поглощение растворов? Какие растения поглощают растворы сильнее? Какие растения имеют наименьшие повреждения от поглощения солевых растворов?

7.6 Влияние солей тяжелых металлов на плазмолиз протоплазмы растительной клетки

Соли тяжелых металлов в водной среде распадаются на ионы. Все ионы металлов могут быть разделены на две группы: биогенные (Cu, Zn, Co, Mn, Fe и др.) и небιοгенные (Pb, Hg, Sn, Ni, Al, Cd, Sr, Cs и др.). Биогенные ионы входят в состав ферментных систем, которые обеспечивают регуляцию всех процессов в клетке и организме. Поэтому их ПДК значительно выше, чем у небιοгенных. При поступлении в растения определенная доза биогенных тяжелых металлов включается в состав ферментных систем, что стимулирует метаболические процессы. Так, медь входит в состав ферментов, участвующих в процессах темновых реакций фотосинтеза, способствует поглощению других элементов; цинк входит в состав ферментов, расщепляющих белки, увеличивает устойчивость растений к жаре, засухе, болезням. Лишь при более высоких концентрациях они действуют как токсиканты.

Цель работы: выявление действия биогенных и небιοгенных тяжелых металлов на плазмолиз протоплазмы растительной клетки.

Оборудование и материалы: микроскоп; предметные и покровные стекла; препаровальная игла; бритвы; пипетка на 1 - 3 мм; стаканы с дистиллированной водой; кусочки фильтровальной бумаги; 5%-ные растворы солей CuSO₄, Pb(NO₃)₂, и др.

Объекты: луковица синего лука или фиолетовые листья традесканции.

Ход работы. С поверхности сильноокрашенной синей луковицы делают несколько срезов эпидермиса, состоящего из 1-2 слоев окрашенных клеток, содержащих антоциан. Помещают срезы по отдельности в капли воды на предметные стекла, закрывают покровными стеклами и рассматривают в

микроскоп. Клетки с окрашенным клеточным соком зарисовывают.

Определяют начало и характер плазмолиза клетки под действием одинаковых концентраций биогенных и небιοгенных солей. Для этого: заменяют воду в препаратах 5%-ным раствором CuSO_4 на одном предметном стекле и таким же раствором $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ на другом. Эта замена производится способом 4-5-кратного накапывания раствора соли с одной стороны покровного стекла и отсасывания кусочком фильтровальной бумаги с другой до полной замены воды раствором соли. Оставляют клетки в растворе солей на 15 мин, когда плазмолиз будет хорошо заметен, рассматривают в микроскоп.

Выявляют комплексное действие повышенной температур и солей. Для этого препараты, в которых вода заменена на раствор соли, выдерживают 10 мин на водяной бане при температуре 40°C , затем рассматривают в микроскоп и зарисовывают. При этом часто наблюдается усиление плазмолиза и почернение содержимого некоторых клеток, т.к. соли свинца при реакции с сероводородными группами белков образуют соединения черного цвета.

Задание: зарисуйте и сделайте выводы относительно действия солей биогенных и небιοгенных тяжелых металлов на характер плазмолиза клетки и на состояние клетки при повышении температур.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильева З.В., Кириллова Г.А., Строчкова А.В. Учебно-методическое пособие по физиологии растений. – М.: Просвещение, 1977. – 96 с.
2. Практикум по физиологии растений /Под ред. В.Б. Иванова. – М.: Издательский центр «Академия», 2001. – 144 с.
3. Практикум по физиологии растений /Под ред. Н.Н. Третьякова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Колос, 1982. – 271 с.
4. Федорова А.И, Никольская А.Н. Практикум по экологии и охране окружающей среды: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. – М.: Гуманитарный издательский центр ВЛАДОС, 2001. – 288 с.