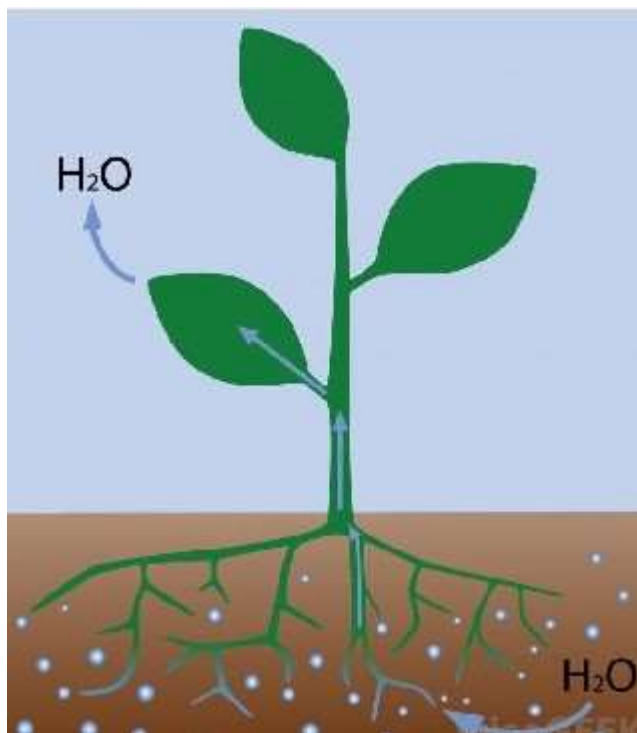


**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ**  
**ФГБОУ ВО**  
**«ИНГУШСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**  
**КАФЕДРА АГРОНОМИИ**

**ПРАКТИКУМ ПО**  
**ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**

*для обучающихся бакалавриата по направлению  
подготовки 35.03.04 Агрономия и 35.03.07 Технология про-  
изводства и переработки сельскохозяйственной продукции.*



*Магас- 2022г.*

Практикум по физиологии растений рекомендован к изданию  
УМС ИнгГУ / протокол № 9 от 25.05 2022г. /.

**Составители:** доцент, канд. биол. наук Леймиева А.Ю., доцент,  
канд. биол. наук Хашагульгова М.А., доцент Цокиев Ю.М.

**Рецензенты:**

Директор ФГБНУ «ИнгНИИСХ», канд. с.-х. наук Базгиев М.А.  
Доцент кафедры биологии ИнгГУ, кандидат биологических наук  
Дударова Х.Ю.

Даются рекомендации по выполнению лабораторных работ по курсу "Физиология растений". Предназначены для студентов, обучающихся по направлению подготовки 35.03.04 Агрономия и 35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Лабораторные занятия – обязательный компонент дисциплины "Физиология растений", изучаемый студентами на втором курсе. С помощью лабораторных занятий обучающиеся могут закрепить ранее полученные навыки и освоить новые методики, например, по микроскопической технике, анализу веществ с помощью микро- и полумикрометода, организации и проведению исследований с помощью методов почвенных, песчаных или водных культур и многое другое.

Таким образом, студенты в ходе лабораторных работ получают необходимый объем знаний и умений, который нужен учителю биологии для проведения соответствующих уроков с учащимися или организации с учениками внеклассной научно-исследовательской работы. Однако не только овладение практическими навыками преследуется лабораторным практикумом по физиологии растений. Сама по себе данная форма обучения способствует развитию у студентов научной формы мышления, логики, умению доказывать и отстаивать свою точку зрения, способности работать в коллективе и совместно решать поставленные задачи. В данных методических указаниях приведены описания и последовательность выполнения лабораторных работ по темам «Физиология растительной клетки», «Водный режим и минеральное питание у растений», «Фотосинтез», «Дыхание» и т.д.

Для каждого лабораторного занятия в методических указаниях помимо всех необходимых указаний и рекомендаций приводятся краткие теоретические сведения, призванные помочь студенту вспомнить или усвоить информацию по конкретным темам, изучаемым в лекционном курсе или в других дисциплинах, с целью осознанного и вдумчивого выполнения лабораторных работ и оформления отчетов по ним.

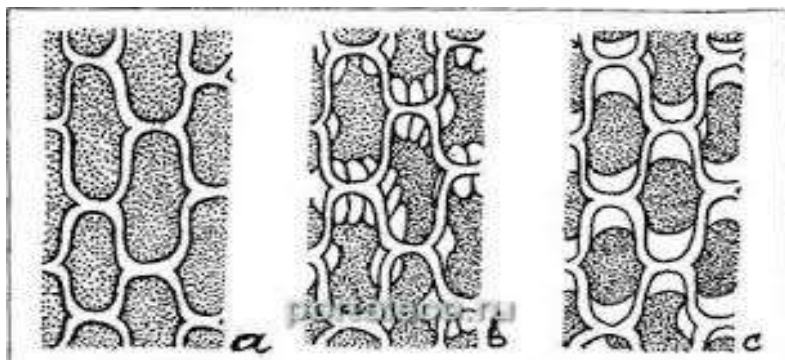
## **Тема 1. ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ**

Растительная клетка является высокоорганизованной системой, осуществляющей все жизненно важные функции. Она находится в состоянии постоянной взаимосвязи с другими клетками растительного организма и с окружающей средой. Каждой из оргanelл клетки имеет свои функции. Эти функции осуществляются в уникальной внутренней среде, создаваемой избирательной проницаемостью и другими специфическими свойствами мембран. Избирательная проницаемость означает, что различные вещества проникают сквозь мембрану с разными скоростями, в основном по причине разной их растворимости в отдельных компонентах мембраны. Помимо избирательной проницаемости живому содержимому растительной клетки присущи такие свойства как раздражение, гетерогенность, вязкость, эластичность, определенный диапазон pH, осмотический потенциал и др.

### **Работа 1. Наблюдение плазмолиза и деплазмолиза**

Процесс обезвоживания протопласта живой клетки, при котором протопласт начинает отставать от оболочки клетки называется *плазмолизом* (рис.1). Плазмолиз является результатом отсасывания воды из клеточного сока каким-либо плазмолитиком. При этом вакуоль уменьшается в объеме, а протоплазма, уменьшаясь в объеме, постепенно отделяется от оболочки клетки. В таком состоянии клетка называется плазмолизированной. Процесс противоположный плазмолизу, когда вода обратно всасывается в клеточный сок и увеличивает объем вакуоли в такой степени, что протоплазма нормально прижата к оболочке клетки, называется *деплазмолизом*.

Таким образом, восстанавливается тургорное состояние клетки. Процессы плазмолиза и деплазмолиза характерны только живым клеткам и основаны на полупроницаемости протоплазмы.



**Рис.1. а – тургор; в – вогнутый плазмолиз; с – выпуклый плазмолиз**

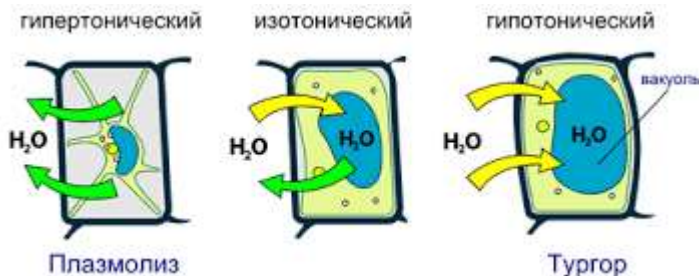
**Ход работы.** Необходимо приготовить тонкий срез с эпидермиса окрашенной чешуи лука, а затем поместить его в молярный раствор на 20-30 минут. После чего рассмотреть сначала при малом, а затем при большом увеличении микроскопа. Когда наступит отчетливый плазмолиз, зарисовать отдельные клетки в тетради, а затем отсосать раствор из-под покровного стекла полоской фильтровальной бумаги, ввести вместо него воду к краю покровного стекла и наблюдать явление деплазмолиза.

**Материалы и оборудование:** лук цветной, микроскоп, предметные и покровные стекла, бритвы, стеклянные палочки, раствор NaCl (молярный), фильтровальная бумага.

## **Работа 2. Определение осмотического давления клеточного сока методом плазмолиза**

Плазмолитический метод определения осмотического давления основан на явлении плазмолиза, наступающем при погружении растительной клетки в раствор, концентрация которого выше, чем концентрация клеточного сока (гипертонический раствор). Степень плазмолиза (т.е. отставание протопласта от клеточной оболочки) тем больше, чем больше разница в концентрациях наружного раствора и клеточного сока. Если подобрать раствор, при погружении в который клетки будут обнаруживать самую слабую, начальную форму (угловой плазмолиз). То очевидно, что концентрация этого раствора лишь незначительно превышает концентрацию клеточно-

го сока, т.е. раствор приблизительно можно считать изотоническим (рис.1).



**Рис.1. Действие растворов различной концентрации на растительную клетку**

**Ход работы.** В пробирках готовят по 10 мл 0.5 М, 0.4М, 0.3М, 0.2М, 0.1М раствора NaCl разбавлением дистиллированной водой 1М раствора этой соли. Растворы тщательно перемешивают и ставят в ряд по убывающей концентрации.

Лезвием безопасной бритвы готовят тонкие срезы с выпуклой поверхности чешуи лука из среднего хорошо окрашенного участка.

В растворы, начиная с высокой концентрации, через каждые 3 минуты опускают по 2 среза. Через 30 минут после погружения срезов в первую пробирку исследуют их под микроскопом в капле раствора из первой пробирки. Через 3 минуты рассматривают срезы из второй пробирки. Далее наблюдают срезы из последующих растворов (по убывающей концентрации) с интервалами в 3 минуты. Этим достигается одинаковая продолжительность нахождения срезов в растворах, что является необходимым условием опыта.

Определяют степень плазмолиза клеток в каждом растворе и находят изотоническую концентрацию как среднее арифметическое между концентрацией, при которой плазмолиз только начинается, и той, которая не вызывает плазмолиза.

Зная изотоническую концентрацию наружного раствора. Вычисляют потенциальное осмотическое давление клеточного сока (P) по формуле:

$$P = R T C i,$$

Где R - газовая постоянная, равная 0.0821 л атм/град моль;  
T- абсолютная температура (273°C + температура комнатная);  
C- изотоническая концентрация в молях;

i- изотонический коэффициент. характеризующий ионизацию раствора (для NaCl и KNO<sub>3</sub> равен 1.5, для сахарозы – 1 ).

Величину потенциального осмотического давления клеточного сока можно вычислить и более простым способом. Известно, например, что осмотическое давление нормального раствора сахарозы равно 22.4 атм., а растворов NaCl и KNO<sub>3</sub> равно 33.6 атм. Следовательно, вычисление можно производить таким образом: для сахарозы.

1 моль - 22.4 атм.

0.25 моля - x

$$x = \frac{22.4 \times 0.25}{1} = 5.6 \text{ атм.}$$

для NaCl

1 моль - 33.6 атм.

0.25 моля - x

$$x = \frac{33.6 \times 0.25}{1} = 8.4 \text{ атм}$$

Результаты опыта записывают в таблицу:

Концентрация растворов, моли	Продолжительность пребывания среза в растворе		Результаты наблюдения		Выводы
	Время погруж.	Время наблюдения	Степень плазмолиза	рисунок	
0.5					
0.4					
0.3					
0.2					
0.1					

**Материалы и оборудование:** цветной лук, раствор NaCl, предметные и покровные стекла, стеклянные палочки, бюксы, фильтровальная бумага, микроскопы. Бритвы, препаровальные иглы.

### **Работа 3. Определение жизнеспособности семян по окрашиванию цитоплазмы**

Метод окрашивания семян для определения их жизнеспособности основан на непроницаемости живой цитоплазмы для некоторых красок (индигокармин кислый фуксин), тогда как мертвая цитоплазма легко подкрашивается.

**Ход работы: Метод Нелюбова.** Семена гороха, намоченные в течение 18ч при 20<sup>0</sup>С, освобождают от семенной оболочки. 10 семян, помещают в 0.2-ный раствор индигокармина на 2 часа при 30<sup>0</sup>С. Затем краску сливают, семена промывают водопроводной водой и устанавливают их жизнеспособность.

Семена с неокрашенными корешками и слабо окрашенными семядолями относят к жизнеспособным. Семена с полностью окрашенными корешками и семядолями признают нежизнеспособными.

**Метод Иванова.** Семена пшеницы (10шт.), намоченные в течение 10ч при комнатной температуре. Разрезают вдоль бороздки и помещают на 15 минут в 0.2%-ный раствор кислого фуксина. Краску сливают, семена промывают водой и, разложив их пинцетом на фильтровальной бумаге, определяют жизнеспособность.

У жизнеспособных семян зародыши не окрашены, а у мертвых или сильно поврежденных – окрашены более или менее интенсивно.

Зарисовывают по 2 жизнеспособных и нежизнеспособных семени гороха и пшеницы. Делают выводы.

**Материалы и оборудование:** убитые и живые семена пшеницы и гороха, пинцет, лезвия. Фильтровальная бумага. Препаровальные иглы, лупы 0.2%-ный раствор кислого фуксина и 0.2% - раствор индигокармина.

### **Работа 4. Проницаемость живой и мертвой протоплазмы для клеточного сока**

Живая протоплазма обладает избирательной проницаемостью (полупроницаемостью), которая обеспечивает сохранение постоянства внутриклеточной среды. При разрушении субмикроскопической структуры протоплазмы это свойство теряется, и она становится проницаемой для всех веществ, в том числе и для клеточного



сока.. При этом интенсивность выхода сока из клетки служит критерием ее повреждения.

**Ход работы.** Из очищенной красной свеклы сверлом диаметром 0.7-0.8см берут куски цилиндрической формы длиной 4см и тщательно промывают водой. Предварительно в четыре пробирки наливают по 10мл различных растворов: в первую – 30%-ную уксусную кислоту, вторую – 50%-ный спирт, третью и четвертую – водопроводную воду. Затем в первую, вторую и четвертую пробирки опускают по одному кусочку ткани свеклы. Один из кусочков свеклы кипятят в отдельной колбе или пробирке в течение 2 минут, охлаждают и опускают в третью пробирку с холодной водопроводной водой. Все пробирки в течение 30 минут стоят в штативе, после чего их интенсивно встряхивают, кусочки свеклы извлекают и в каждой отмечают окраску жидкости.

Результаты записывают в таблицу:

Вариант опыта	Окраска жидкости в пробирке	Полупроницаемость протоплазмы
Уксусная кислота		
Спирт		
После кипячения		
Контроль		

**Материалы и оборудование:** красная свекла; пробочное сверло; скальпель; пробирки; 30%-ная уксусная кислота; 50%-ный спирт; спиртовка; линейка.

### **Работа 5. Определение сосущей силы растительной ткани методом полосок**

*Сосущей силой* клетки называется та сила, с которой клетка всасывает в себя воду и выражается разностью между осмотическим давлением и тургорным:  $S = P - T$ . Она характеризует водный потенциал ткани и ее определение необходимо для выявления уровня обезвоживания растений и своевременного проведения вегетационных поливов в условиях орошения с/х культур.

Метод полосок основан на изменении размеров тканей под действием растворов. Если концентрация раствора в которой по-

гружается полоска ткани, ниже концентрации клеточного сока, вода будет всасываться растительной тканью, и он будет увеличиваться в своих размерах. И, наоборот, при погружении в раствор с более высокой концентрацией полоска ткани будет уменьшаться. Основная задача сводится к тому. Чтобы подобрать раствор при погружении в который размеры ткани не изменяются.

**Ход работы.** В нескольких пробирках. Расставленных в штативе, приготавливают растворы NaCl различных концентраций. В качестве исходного используется 1М раствор NaCl, из которого путем разбавления дистиллированной водой приготавливают по 10М растворов необходимой для опыта концентрацией.

Затем с помощью пробочного сверла из клубня картофеля вырезают 5 полосок длиной 1.5-2см. Концы их срезают наискось (или вырезают скальпелем длиной 3см и сечением 4мм). Миллиметровой линейкой измеряют их длину, поверхность подсушивают фильтровальной бумагой и помещают в растворы с интервалами в 2-3 мин. После 20 мин пребывания в растворах их вновь измеряют. Раствор, в котором длина полоски осталась без изменения будет *изотоничным* клеточному соку данной ткани. Расчет величины со-сущей силы производится, так же как и в работе по определению осмотического давления.

Результаты опыта записывают в таблицу:

Конц-ия раст-ов, моли	Продолжительность пребы- вания среза в растворе		Длина ткани, мм		Выводы
	Время погружения	Время наблюдения	Перед погружением в р-р	После пре- бывания в р-ре	
0.5					
0.4					
0.3					
0.2					
0.1					

**Материалы и оборудование:** клубни картофеля; растворы NaCl; пробирки; пробочное сверло; линейка; фильтровальная бумага; скальпель; препаровальная игла.

## **Работа 6. Определение сосущей силы ткани методом струек (по Шардакову)**

Данный метод основан на том, что концентрация раствора за время пребывания растительной ткани изменяется вследствие обмена водой между клетками и раствором. Если ткань погружена в раствор, сосущая сила которого меньше сосущей силы ткани, то клетки поглощают воду из раствора, и он становится более концентрированным. Наоборот, при погружении ткани в раствор, сосущая сила которого больше сосущей силы ткани, раствор, вытягивая воду из клеток ткани. Становится менее концентрированным. Пользуясь связью между концентрацией и удельным весом растворов можно легко определить, имеет ли сосущая сила ткани большую или меньшую величину, чем сосущая сила раствора, в который ткань была погружена.

**Ход работы.** В штативе в два ряда расставляют по 5 пробирок. В пробирках первого ряда готовят по 10мл раствора NaCl различных концентраций разбавлением 1М раствора этой соли дистиллированной водой. Растворы тщательно перемешивают и по 1мл переносят в пробирки второго ряда. Все пробирки закрывают пробками.

При помощи пробочного сверла вырезают 30 высечек из листьев. Для этого лист нижней стороной поворачивают вверх, подкладывают под него резиновую пластинку и между крупными жилками выбивают высечки. Опускают по 6 высечек нижнего ряда на 40 мин. Через каждые 10 мин. Встряхивают пробирки с высечками. Затем стеклянной палочкой выводят высечки на стенки пробирок. Подкрашивают опытные растворы в пробирках второго ряда метиленовой синькой, взятой в небольшом количестве на кончике препаровальной иглы. Встряхивают пробирки, добываясь равномерной окраски раствора.

В пипетку с оттянутым концом набирают подкрашенный опытный раствор. Конец пипетки опускают в соответствующий исходный раствор в пробирке первого ряда так чтобы нижний конец пипетки был погружен в раствор на 2-3см. Медленно выпускают жидкость из пипетки в исходный раствор, отмечая направление движения струйки. Если концентрация и, следовательно, удельный вес окрашенного раствора увеличились, по сравнению с

исходным, то струйка пойдет вниз, если, наоборот, концентрация уменьшилась – струйка пойдет вверх. При равенстве концентраций струйка равномерно распределяется внутри пробирки с исходным раствором.

Величину сосущей силы по найденной из опыта неизменившейся концентрации рассчитывают по формуле (см. предыдущую работу).

Результаты опыта записывают в таблицу:

Концентр. NaCl	Направление струек	Сосущая сила, атм.
0.5		
0.4		
0.3		
0.2		
0.1		

**Материалы и оборудование:** герань; штатив; пробирки; градуированные пипетки на 10 мл; сверло; резиновая пластинка; пинцет; часы; 1М раствор NaCl; метиленовая синька.

## Тема 2. ФОТОСИНТЕЗ

*Фотосинтез* – процесс усвоения растениями световой энергии и использования ее для образования органических веществ из диоксида углерода и воды. В ходе этого процесса в атмосферу выделяется кислород. Фотосинтез осуществляется при участии многих ферментов и кофакторов. Условно в нем выделяют две стадии: световую, или фотохимическую, и темновую, или химическую. Первая включает реакции поглощения хлорофиллом и другими пигментами квантов света и последующую трансформацию световой энергии в химическую энергию связей АТФ и восстановленного НАДФ Н. В темновой стадии запасенная в форме АТФ и НАДФ Н химическая энергия используется для восстановления акцептированного диоксида углерода до углеводов и других продуктов.

У высших растений фотосинтез протекает в специальных клеточных органеллах листьев (и других зеленых частей) – хлоропластах, число которых в клетках варьирует в зависимости от вида растения и ткани. В одной клетке листа в среднем присутствует 20...30 хлоропластов. Образующиеся в пластидах продукты ассимиляции транспортируются в другие органы и ткани растения, где используются в процессе метаболизма и роста.

### **Работа 1. Определение химических свойств пигментов листа**

Пигментная система хлоропласта представлена двумя типами пигментов: зелеными – хлорофиллами «а»  $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ , хлорофилл «в»  $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ ; желтыми – каротин  $C_{40}H_{56}$ , ксантофилл  $C_{40}H_{56}O_2$ .

**Получение спиртового раствора (вытяжки) пигментов.** Пигменты из растительной ткани извлекают полярными растворителями (этиловый спирт, ацетон), которые разрушают связь хлорофиллов и ксантофиллов с липопротеидами пластид и тем самым обеспечивают их полное экстрагирование.

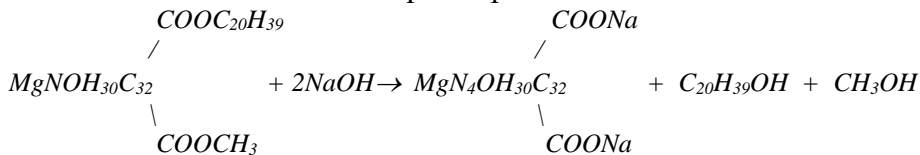
Свежие или сухие листья мелко нарезать и растереть в фарфоровой ступке в 3-4 мл 96%-ного спирта. В полученную массу прибавляем 8-10мл этилового спирта и продолжаем растирать до появления зеленого окрашивания. Полученную спиртовую массу фильтруют через складчатый фильтр в сухую пробирку и получа-

ют спиртовую вытяжку хлорофилла, имеющую интенсивную зеленую окраску.

**Разделение пигментов по Краусу.** Метод основан на различной растворимости пигментов в спирте и бензине. Указанные растворители в одном сосуде не смешиваются, а образуют две фазы – верхнюю бензиновую и нижнюю спиртовую, благодаря чему разделяются компоненты смеси пигментов.

В пробирку наливают 2-3мл спиртового экстракта пигментов, добавляют 3-4мл бензина и 1-2 капли дистиллированной воды. Содержимое пробирки сильно встряхивают, предварительно закрыв ее пробиркой или большим пальцем, и оставляют отстояться. По мере расслоения эмульсии бензиновый слой будет окрашиваться в зеленый цвет из-за лучшей растворимости в нем хлорофиллов. В бензин переходит каротин но его окраска маскируется окраской хлорофилла. Ксантофилл остается в спиртовом слое и придает ему золотисто-желтую окраску.

**Омыление хлорофилла щелочью.** Обработывая хлорофилл щелочью, можно вызвать омыление эфирных групп, т.е. отщепление остатков метилового спирта и фитола:

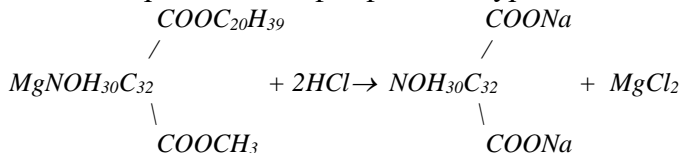


Образующаяся при этом соль хлорофиллиновой кислоты сохраняет зеленую окраску т.к. не затронут атом магния, но отличается от него большей гидрофильностью.

**Ход работы:** В пробирку с 2–3 мл вытяжки пигментов добавить 1–2 капли 20%-ного раствора NaOH. Пробирку нагреть на водяной бане до закипания в ней раствора. После охлаждения добавить в пробирку 2–3 мл бензина и 2–3 капли воды (для лучшего разделения смеси). Затем содержимое пробирки сильно встряхнуть и дать отстояться. В пробирке должны присутствовать два слоя: нижний (спиртовый), окрашенный в зеленый цвет; верхний (бензиновый), окрашенный в желтый цвет. В спиртовом слое растворены натриевая соль хлорофиллиновой кислоты и ксантофиллы, окраска которых маскируется хлорофиллом. В бензиновом слое растворен

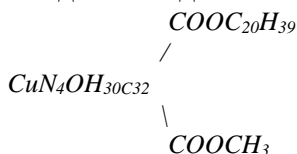
каротин. В конце работы зарисовать картину разделения пигментов после омыления хлорофилла.

**Действие кислот на хлорофилл.** Атом магния сравнительно слабо удерживается в порфириновом ядре хлорофилла и при остром воздействии сильных кислот легко замещается двумя протонами с образованием феофитина бурого цвета:



Следовательно, цвет хлорофиллов обусловлен металлоорганической связью в их молекулах.

**Ход работы:** В две пробирки налить по 2–3 мл спиртового раствора пигментов и прибавить по одной-две капли 10%-ной соляной кислоты. Зеленая окраска раствора переходит в бурую, так как образовался феофитин. Одну пробирку оставить для контроля, во вторую внести небольшой кристаллик уксуснокислой меди и нагреть раствор на водяной бане до кипения. Бурый цвет раствора изменится на зеленый, так как произошло образование хлорофиллпроизводного меди:



В конце работы зарисовать картину разделения пигментов после омыления хлорофилла. В заключение необходимо объяснить изменение окраски.

**Материалы и оборудование:** Сухие или свежие листья, этиловый спирт, бензин, 20% раствор NaOH, 10% раствор соляной кислоты. Ступка фарфоровая, пробирка, воронка, спиртовка, бюкс с крышкой, водяная баня, ножницы, фильтровальная бумага.

## Работа 2. Определение содержания пигментов в листьях методом бумажной хроматографии

Метод основан на распределении пигментов между целлюлозой хроматографической бумаги и подвижной фазой – растворите-

ля. Когда по бумаге под действием капиллярных сил движутся растворители, молекулы пигментов, нанесенные на бумагу, распределяются между фазами в соответствии с коэффициентом распределения. Чем выше растворимость пигмента в подвижной фазе, тем дальше он продвигается по бумаге вместе с растворителем, и наоборот (рис.1).

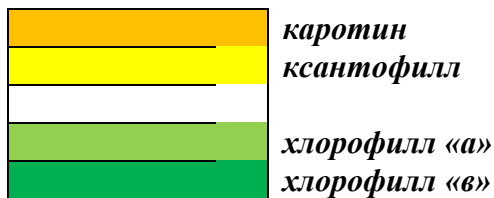
**Ход работы.** Для получения вытяжки пигментов 500г мякоти листа (без крупных жилок) быстро измельчают ножницами и тщательно растирают в фарфоровой ступке с чистым кварцевым песком, добавив на конце скальпеля  $\text{CaCO}_3$  для нейтрализации клеточного сока. Затем приливают 3-4 мл ацетона с этиловым спиртом (3:1) и продолжают растирать вместе с растворителями. Экстракт сливают по палочке в воронку со стеклянным фильтром №2, соединенную с колбой Бунзена и отсасывают насосом Камовского.

К оставшейся в ступке массе приливают 3-4 мл смеси растворителей и продолжают растирать, жидкость сливают в воронку и отсасывают. Эту операцию проводят до полного извлечения зеленых пигментов из растертой массы. После этого экстракт количественно переносят в мерную колбочку на 25 мл и доливают смесью растворителей до метки. Полученную вытяжку пигментов используют для определения пигментов.

На лист хроматографической бумаги (13x13 см) отступив от края на 2.5 см наносят пипеткой 1-2мл ацетоново-спиртовой вытяжки пигментов в виде узкой полоски. Наносят вытяжку в несколько приемов. Каждую последующую порцию наносят только после подсушивания в токе воздуха от вентилятора. После нанесения вытяжки хроматограмму свертывают в цилиндр и соединяют ее уголки скрепкой. Цилиндр помещают в камеру, на дно которой предварительно ставят чашку Петри с 10-15 мл растворителей бензол+петролейный эфир (2:1). При отсутствии петролейного эфира возможно использование бензина. Камеру герметично закрывают стеклом и ставят в темный шкаф.

Разделение пигментов происходит восходящим током смеси растворителей. Как только пигменты отделяют друг от друга, бумагу вынимают из камеры, подсушивают и ножницами вырезают полоски с соответствующими пигментами:





**Рис.1. Вид хроматограммы с разделенными пигментами**

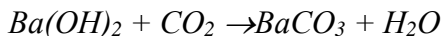
Каждую полоску разрезают на мелкие куски и помещают их в бюкс для элюирования пигмента. Для этого кусочки заливают ацетоном, встряхивают содержимое бюкса и раствор переносят в пикнометры на 10 мл. Затем объем элюата доводят до объема 10 мл и определяют в нем концентрацию пигмента на фотоэлектроколориметре.

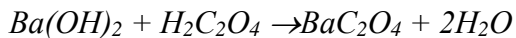
**Материалы и оборудование:** листья растений; ацетон; этиловый спирт;  $\text{CaCO}_3$ ; кварцевый песок; весы; ножницы; ступки с пестиками; колбы Бунзена; стеклянные фильтры №2; цилиндры с крышкой или корковой пробкой; хроматографическая бумага; насос Камовского; фотоэлектроколориметр.

### **Работа 3. Определение интенсивности фотосинтеза по поглощению $\text{CO}_2$ в токе воздуха**

При изучении интенсивности фотосинтеза наиболее распространенными являются методы, при помощи которых учитывают убыль углерода из воздушного пространства, в которое заключено растение. При нередко учитывается убыль углекислого газа в токе воздуха проходящего сквозь камеры с заключенным в нее листом, не отделенным от растения, или же целым растением. Пройдя камеру, воздух поступает в поглотитель с раствором барита, где и улавливается неассимилированным листом углекислый газ:

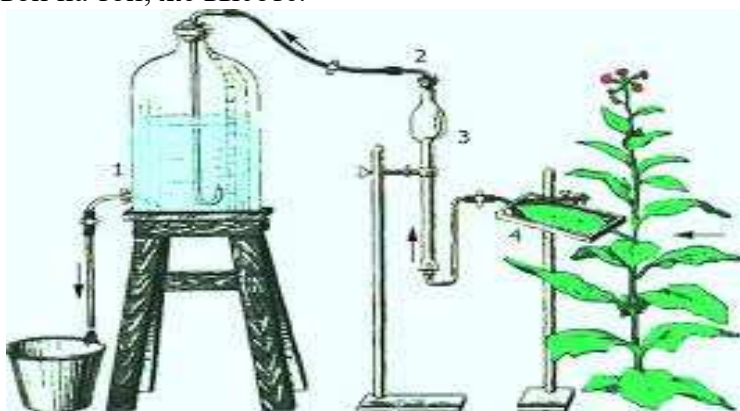
Параллельно проводят контрольное определение, т.е. такой же объем воздуха просасывает через камеру без листа и соответствующий поглотитель. Затем по разности между опытным и контрольным определениями находят количество поглощенной листом углекислоты.





Прибор состоит из листовой камеры, поглотителя  $\text{CO}_2$  и аспиратора, служащего для просасывания точного объема воздуха.

**Ход работы.** Аспиратор наполняют водой до верхнего деления водомерной трубки, плотно закрывают пробкой и присоединяют к каждому из них короткую отводную поглотителя соединяют с листовой камерой. Затем соединительные шланги зажимают винтовыми зажимами. В одну камеру вводят лист, не отделяя его от растения, вторую камеру оставляют без листа, но помещают рядом с первой на той же высоте.



**Рис.1. Установка по определению фотосинтеза по поглощению  $\text{CO}_2$  в токе воздуха: 1 – аспиратор; 2 – поглотитель; 3 – камера.**

После сборки прибора в каждый поглотитель наливают по 50 мл 0.1 н раствора барита и быстро закрывают пробкой. Затем прибор включают в следующей последовательности: сначала освобождают зажимы на соединительных шлангах и, отметив время, осторожно открывают зажимы на спускных трубках аспираторов.

С помощью нижних зажимов добиваются одинаковой скорости просасывания воздуха через опытный и контрольный приборы.

За скоростью истечения воды следят в продолжении всего опыта. Длительность экспозиции 20 мин. По окончании опыта закрывают зажимы, а из отработанного барита с помощью мерного цилиндра берут 10 мл, и переносят в коническую колбочку, при-

бавляют 2 капли фенолфталеина и оттитровывают 0.1 н щавелевой кислотой до слабо-розовой окраски, исчезающей от одной капли кислоты.

Интенсивность фотосинтеза находят по формуле:

$$I\phi = \frac{(a-v) \times K \times 2.2 \times V \times 100 \times 60}{v \times S \times t} = \text{мг } CO_2 \times \text{дм}^2/\text{час},$$

где V- общий объем раствора барита в поглотитель, мл;

v - объем раствора барита, взятого для титрования, мл;

a - количество миллилитров 0.1 н щавелевой кислоты, израсходованное на титрование опытного раствора;

v - количество миллилитров 0.1 н щавелевой кислоты, израсходованное на титрование контрольного раствора;

2.2 - количество мг  $CO_2$ , соответствующее 1 мл точно 0.1 н щавелевой кислоты;

S - площадь листа,  $см^2$ ;

t - продолжительность опыта, мин.

Полученные результаты записывают в таблицу:

Объект	Вариант опыта	Взято $Ba(OH)_2$ , мл		Пошло $H_2C_2O_4$ , мл	Площадь листа, $м^2$	Интенсивность фотосинтеза, $мг/дм^2 \text{ в } 1 \text{ ч}$
		В поглотитель	Для титрования			
	Камера с листом					
	Камера без листа					

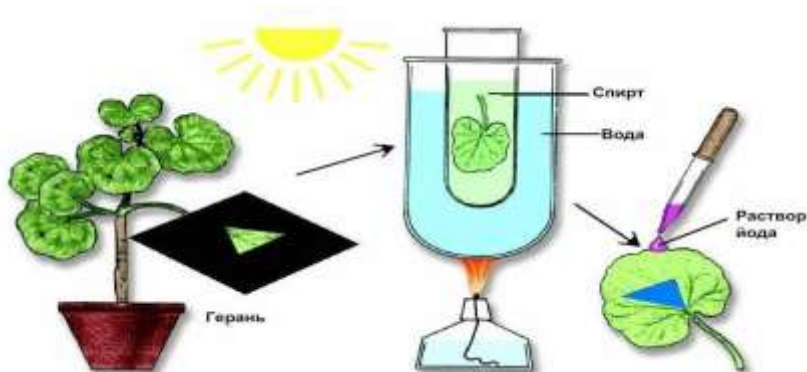
**Материалы и оборудование:** Растение (герань и др.) прибор для определения фотосинтеза (камера, поглотитель, аспиратор); 0.1 н раствор  $Ba(OH)_2$ ; 0.1 н раствор щавелевой кислоты с бюреткой; фенолфталеин в капельнице; два цилиндра на 50 мл; конические колбочки.

#### Работа 4. Обнаружение фотосинтеза методом крахмальной пробы

Наиболее простым методом обнаружения фотосинтеза является крахмальная проба. При этом лист, выдержанный на свету,

обесцвечивается спиртом, а затем обрабатывают раствором йода, окрашивающего образовавшийся в хлоропластах крахмал в темносиний цвет.

Для наблюдения за процессом образования первичного крахмала необходимо, чтобы в начале опыта листья не содержали этого вещества, для чего их выдерживают в темноте в течение нескольких дней. За это время весь имевшийся в листьях крахмал превратится в сахара, которые частично будут отведены в стебель, а частично израсходованы на дыхание клеток листа (рис. 1).



**Рис.1. Обнаружение фотосинтеза методом крахмальной пробы**

**Ход работы.** Берут зеленое растение (герань и др.), обильно поливают его и ставят в темное теплое место либо затеняют один или несколько листьев, не обрезая их от растения. При выдерживании в темноте листья постепенно теряют крахмал на дыхание, рост и частичный отток в другие органы растений. Через 2-3 дня отдельные участки листьев покрывают с нижней и верхней стороны непрозрачным экраном (для чего могут служить темная плотная бумага, фольга, пробковые) с вырезанными на нем различными фигурами. Для прикрепления экрана к листу можно употребить проволоочные скрепы. После этого листья (или растение) выставляют на яркий солнечный или электрический свет (при использовании лампы накаливания 200-300 Вт).

Через 2 часа (или более) лист кладут в пробирку, заливают водой и кипятят в течение 2-3 минут. После кипячения воду сли-

вают, приливают в пробирку спирт и кипятят до полного извлечения хлорофилла (лист станет белым). Нагревать следует осторожно, так как при бурном кипячении может произойти выплескивание спирта из пробирки.

После этого спирт сливают, размягчают лист, наливая на него небольшое количество воды (после действия спирта ткани становятся хрупкими). Затем лист переносят в чашку Петри и обрабатывают раствором йода.

Записывают результаты опыта, отмечая, в каких частях листа образовался крахмал, и выполняют соответствующие рисунки. В выводах указывают, какие условия необходимы для процесса фотосинтеза.

**Материалы и оборудование:** растение, выдержанное в темноте; спирт; люголь, спиртовка, пробирка, чашка Петри, плотный картон или фольга, проволоочные скрепы, спички.

### **Работа 5. Определение фотосинтеза по изменению содержания углерода в листьях растений по (Ф.З.Бородулиной)**

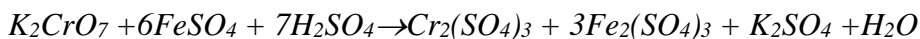
При фотосинтезе растениями поглощается углекислый газ и углерод, содержащийся в его составе, восстанавливается и аккумулируется в образуемых органических веществах. Поэтому по накоплению углерода органического вещества можно судить об интенсивности фотосинтеза.

Учет содержания углерод органического вещества выполнить следующим образом: из листьев соответствующего яруса пробочным сверлом высекают диски определенной площади и в них определяют исходное содержание углерода. Через 2-3 часа из этих же листьев берут такое же число дисков для вторичного определения углерода. По разности между содержанием в конце и начале опыта рассчитывают содержание углерода на единицу листовой поверхности в единицу времени.

Углерод органических веществ учитывают методом мокрого сжигания, при этом углерод окисляется 0.4 н раствором бихромата калия в присутствии серной кислоты:



Избыточное количество бихромата калия, не использованное на окисление органического вещества, обратным титрованием 0.2 н раствором соли Мора:



В качестве индикатора применяют дифениламин, который в восстановленной форме бесцветен, а при окислении приобретает сине-фиолетовую окраску. Путем определения содержания углерода в листьях через определенные интервалы времени, возможно, выявление характера дневного хода фотосинтеза и его зависимости от условий минерального питания, освещения, увлажнения и др.

**Ход работы.** Из листа определенного яруса сверлом вырезают диски общей площадью 3 см<sup>2</sup> и помещают их в коническую колбу на 25 мл, в которую из бюретки заранее наливают 10мл 0.4 н раствора K<sub>2</sub>CrO<sub>7</sub>. Раствор слабо кипятят в течение 5 мин на электроплитке, охлаждают и переносят в колбу на 250мл. К охлажденному раствору приливают 150 мл дистиллированной воды, 3 мл 85%-ой ортофосфорной кислоты и 10 капель дифениламина. Содержимое колбы взбалтывают и оттитровывают 0.2н раствором соли Мора. При этом синяя окраска переходит в бурую, и продолжают титрование до появления зеленой окраски. Одновременно проводят контрольное определение (без растительного материала), тщательно соблюдая все указанные выше операции.

Количество мг углерода органического вещества, содержащегося в 1дм<sup>2</sup> листовой поверхности, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \times K \times 0.6 \times 100}{S},$$

где а – количество миллилитров соли Мора, израсходованное на титрование контрольного раствора;

в – количество миллилитров соли Мора, пошедшее на титрование опытного раствора;

К – поправка к титру раствора соли Мора;

0,6 – миллиграммы углерода, соответствующие 1 мл точно 0,2 Н раствора соли Мора;

S – площадь высечек, см<sup>2</sup> .

По разности содержания углерода в 1 дм<sup>2</sup> листовой поверхности до и после опытной экспозиции определяют его содержание на опытное время. Интенсивность фотосинтеза рассчитывают по увеличению или уменьшению содержания углерода в мг СО<sub>2</sub>/дм<sup>2</sup> час. Ввиду того, что содержание углерода так же, как и сухого вещества в листьях разных ярусов, различно, желательно проделать определения его исходного и конечного содержания на одних и тех же листьях. Для этого ис- 62 ходную пробу (несколько дисков) берут с одной половинки листа, а по окончании опытной экспозиции симметрично расположенные диски – с другой половинки.

**Материалы и оборудование:** Растения; конические колбы на 250 мл; бюретки; 0,4 н раствор бихромата калия (в разбавленной серной кислоте 1:1); воронки; мерный цилиндр на 100 мл; 0,2 н раствор соли Мора; дифениламин; 85%-ная ортофосфорная кислота; пробочное сверло диаметром 5–10 мм

### **Работа 6. Наблюдение флуоресценции хлорофилла**

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

Независимо от длины волны возбуждающего света хлорофилл флуоресцирует только красным светом. В живом листе основным флуоресцирующим пигментом является хлорофилл а. При этом в листьях флуоресценция выражена гораздо слабее, чем в растворе, так как часть поглощенной энергии используется на сенсibilизирование фотохимических реакций. Поэтому возрастание интенсивности фотосинтеза, как правило, влечет за собой ослабление флуоресценции.



**Рис. 1.** Экстракт хлорофилла в спирте освещённый белым светом (сверху) и ультрафиолетом, вызывающим его флуоресценцию (снизу).

**Цель работы:** наблюдать флуоресценцию хлорофилла.

**Ход работы.** Вытяжку пигментов темно-зеленого цвета налейте в цилиндр и поместите на черный фон, осветите сильной лампой, рассмотрите в отраженном свете. Запишите, какой цвет имеет вытяжка. Объясните наблюдаемую окраску.

**Материалы и оборудование.** Спиртовая концентрированная вытяжка пигментов, цилиндр на 10 см<sup>3</sup>, черная бумага, настольная лампа.



### Тема 3. ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ

*Дыхание* – это окислительно-восстановительный процесс, при котором происходит распад сложных органических соединений, в первую очередь углеводов, до простейших конечных продуктов углекислоты и воды с выделением свободной энергии в виде тепла. В результате растение получает свободную энергию АТФ, которая необходима для жизненных процессов, происходящих в растениях. Дыхание растений можно выразить такой суммарной формулой:



При дыхании в клетках растений образуются различные органические вещества, которые используются для синтеза необходимых растению белков, нуклеиновых кислот, жиров, углеводов и других жизненно важных соединений. Таким образом процессы, связанные с дыханием, находятся в центре обмена веществ и энергии, постоянно происходящего в живых растительных клетках.

Дыхание представляет собой цепь химических реакций, связанных с функционированием специфических ферментов. Сложные органические вещества, расходуемые на дыхание (белки, жиры, крахмал и др.) подвергаются деполимеризации т.е. претерпевают окислительный распад до простых сахаров. Активированные сахара расщепляются при анаэробных условиях до легкоокисляемых соединений типа пировиноградной кислоты ( $CH_3COCOON$ ). Дальнейшие превращения ПВК зависят от условий, имеющихся в клетке, и прежде всего от наличия в ней кислорода

В аэробных условиях от молекулы ПВК отнимается водород (дегидрогенизация), который через дыхательную цепь передается кислороду. Параллельно молекула ПВК подвергается ступенчатому декарбоксилированию, в результате чего высвобождаются три молекулы углекислого газа. Окислительно-восстановительные реакции переноса водорода по дыхательной цепи сопровождаются высвобождением энергии, часть которой идет на синтез АТФ (окислительное фосфорилирование).

Интенсивность дыхания – это наиболее общий показатель скорости окислительных реакций. О ее величине можно судить по количеству поглощенного тканью кислорода или выделенного уг-

лекислого газа за единицу времени. Интенсивность дыхания зависит от целого ряда факторов: биологических особенностей вида, степени его светолюбия, физиологического состояния отдельных тканей растения, а также от температуры, газового состава воздуха, содержания влаги, освещенности и т.д. Следовательно, создавая определенные условия, можно управлять процессом дыхания с целью достижения наивысшей продуктивности с/х растений.

### **Работа 1. Определение интенсивности дыхания прорастающих семян по Годлевскому**

Метод основан на обнаружении поглощения кислорода и выделения углекислого газа прорастающими семенами в процессе дыхания. При создании закрытого пространства с прорастающими семенами, имеющийся кислород используется семенами на дыхание и в случае связывания выделяемого  $\text{CO}_2$  щелочью происходит уменьшение объема воздуха. Данный показатель свидетельствует о величине выделяемого  $\text{CO}_2$ .

**Ход работы.** Прорастающие семена (50 г) высыпают в колбу Бунзена (рис.1.) и туда же спускают скляночку с крепким раствором КОН.



**Рис. 1 Колба Бунзена с семенами**

Горло колбы закрывают мягкой резиновой пробкой и для лучшей герметичности заливают парафином. Градуированную пипетку соединяют с помощью резиновой трубочки с носиком колбы.

Прибор устанавливают на штатив так, чтобы конец пипетки опустить в стаканчик с окрашенной водой.

В процессе дыхания проросшие семена поглощают кислород из воздуха. Заключено в колбе и пипетке. В то же время выделяемая семенами  $\text{CO}_2$  поглощается раствором КОН.

В результате уменьшения давления воздуха внутри колбы и пипетки окрашенная вода из стаканчика поднимается по пипетке. Отмечают время начала подъема вода в пипетке и ее уровень. Далее через каждые 15 минут не менее трех раз.

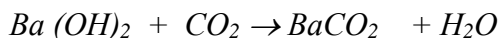
Результаты записывают в таблицу:

Отсчеты	Время отсчета		За 15 мин поднялось мл воды		В среднем выде- лилось мл $\text{CO}_2$
	начало	конец	по отсчетам	в среднем	
1.					
2.					
3.					

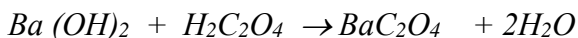
**Материалы и оборудование:** проросшие семена, колба Бунзена, резиновая пробка, маленькая скляночка или пробирочка, резиновая трубка, градуированная пипетка на 2 мл, крепкий раствор КОН, парафин, стаканчик, метиленовая синька. столик-штатив, цветные карандаши, линейка.

## Работа 2. Определение интенсивности дыхания семян в закрытом сосуде при различных температурах

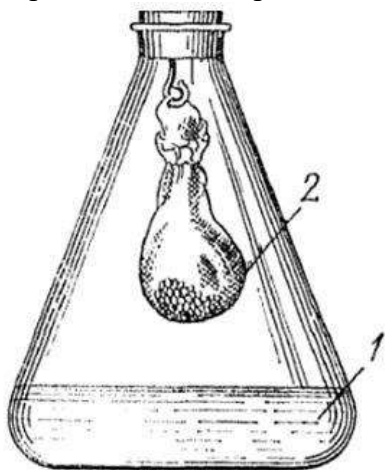
Метод заключается в учете количества  $\text{CO}_2$ , выделяемого семенами при дыхании. Процесс поглощения диоксида углерода баритом можно записать в виде следующего уравнения:



Избыток барита, не прореагировавшего с  $\text{CO}_2$ , оттитровывают щавелевой кислотой:



**Ход работы.** Проросшие семена пшеницы (2г) помещают в марлевый мешок. В две конические колбы из бюретки наливают по 10мл 0.1н раствора  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  и закрывают их пробками. В одну колбу, приоткрыв ее, быстро подвешивают на крючок пробирки мешочек, другую колбу используют в качестве контроля. Обе колбы выдерживают 1 час при комнатной температуре (рис.1.).



**Рис. 1. Колба для определения интенсивности дыхания семян в закрытом сосуде:**

*1 – раствор гидроксида бария  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ; 2 – марлевый мешочек с семенами*

В течение опыта колбы периодически покачивают для разрушения на поверхности барита пленки  $\text{BaCO}_3$ , препятствующей полному поглощению  $\text{CO}_2$ .

Через 1 час поочередно из контрольной и опытной колбы вынимают пробки, добавляют по 2-3 капли фенолфталеина и оттитровывают барит 0.1н раствором щавелевой кислоты до слабо-розового окрашивания, исчезающей от одной капли кислоты.

Интенсивность дыхания рассчитывают по формуле:

$$J = \frac{(a - b) \times K \times 2.2}{N} \text{ мг } CO_2 \text{ г/час}$$

где а и b – количество 0.1 раствора щавелевой кислоты, израсходованной на титрование барита, соответственно в контрольном и опытном вариантах, мл;

K – поправка к титру 0.1 н раствора щавелевой кислоты;

2.2 – количество CO<sub>2</sub> мг, соответствующее 1 мл 0.1н раствора щавелевой кислоты;

n – масса семян, г.

Параллельно определяют дыхание семян при 10<sup>0</sup> и 40<sup>0</sup> С. Для определения дыхания семян при 10 и 40<sup>0</sup>С ставят в кристаллизаторы с водой, где поддерживаются соответствующие температурные режимы в течение 1 часа.

Результаты опыта записывают в таблице:

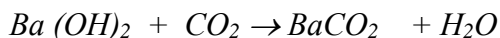
Темпер., °С	Навеска семян	Объем барита, мл	Количество щавелевой кислоты, пошедшей на титрование, мл		Интенсивность дыхания, мг CO <sub>2</sub> на 1г сем. за 1 ч.
			контроль	опыт	
10					
20					
40					

На основе полученных результатов строят график зависимости дыхания семян от температуры.

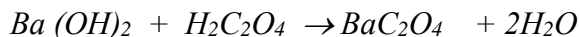
**Материалы и оборудование:** прорастающие семена пшеницы, 0.1н раствор щавелевой кислоты, 1%-ый раствор фенолфталеина, весы с разновесами, конические колбы на 250мл с пробками, марлевые мешочки.

### Работа 3. Определение интенсивности дыхания прорастающих семян в токе воздуха

Метод заключается в учете количества CO<sub>2</sub>, выделяемого семенами при дыхании. Семена помещают в приемник, через который пропускают воздух, прошедший через поглотитель CO<sub>2</sub>.



Избыток барита, не прореагировавшего с  $\text{CO}_2$ , оттитровывают щавелевой кислотой:



**Ход работы.** Соберите аспирационную установку (рис. 6), включающую три сосуда с пробками (1 – поглотитель атмосферного  $\text{CO}_2$ , 2 – приемник для семян, 3 – поглотитель  $\text{CO}_2$ , который выделяется семенами при дыхании). Все элементы соедините между собой последовательно газоотводными трубками. Первый сосуд соедините с насосом. В первый и последний сосуды налейте по 25  $\text{cm}^3$  насыщенного раствора барита (рис.6.).

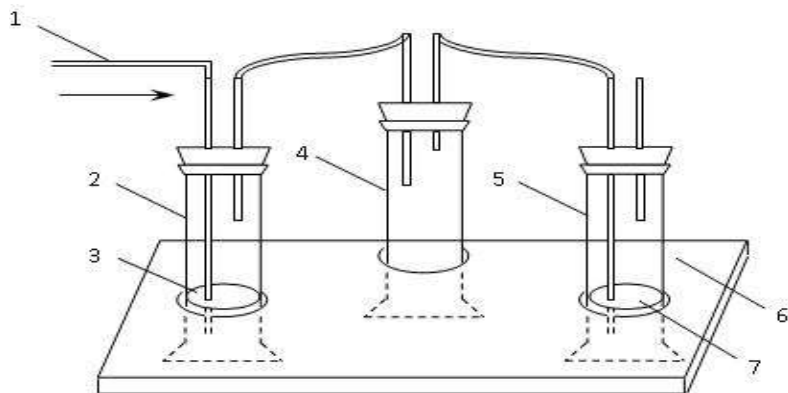


Рис. 6. Установка для определения интенсивности дыхания семян в токе воздуха:

1 – трубка, присоединяющаяся к насосу; 2 – сосуд с поглотителем для связывания  $\text{CO}_2$  воздуха; 3 – поглотитель для связывания  $\text{CO}_2$  воздуха; 4 – приемник для семян; 5 – сосуд с поглотителем для связывания  $\text{CO}_2$ , выделенного семенами; 6 – штатив из пенопласта; 7 – поглотитель для связывания  $\text{CO}_2$ , выделенного семенами

Возьмите навеску семян 4 г, посчитайте их количество и поместите в приемник. Герметично закройте все сосуды. С помощью насоса продувайте путем нагнетания воздух через систему с такой скоростью, чтобы в поглотителе (2) образовывалось не более двух пузырьков в секунду.

Через всю систему создается ток воздуха. Он проходит через две контрольные колбы, очищаясь от  $\text{CO}_2$ , так как барит поглощает углекислый газ, и поступает в приемник для семян. Семена дышат, выделяя углекислый газ, который поступает в поглотитель и связывается с баритом. Опыт проводите в течение 30 минут. Затем отработанный барит из поглотителя тщательно перемешайте и возьмите по  $10 \text{ см}^3$  его из каждого приемника в конические колбы, добавьте по 2 капли фенолфталеина и оттитруйте  $0,1 \text{ н } \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$  до слаборозового окрашивания, исчезающего от одной капли кислоты. Повторите опыт в той же последовательности, но при температуре  $+35^\circ\text{C}$  с проросшими семенами и при комнатной температуре с контролем (4 г сухих семян пшеницы).

Интенсивность дыхания (в мг  $\text{CO}_2$ , выделяемого 1 г сухих семян за 1 час) рассчитывают по формуле:

$$J = \frac{(a - b) \times K \times 2,2 \times M \times 60}{m \times n \times t} = \text{мг } \text{CO}_2 \text{ г/час},$$

где  $M$  – общий объем барита в поглотителе, мл;

$m$  – объем раствора  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  взятого для титрования, мл;

$t$  - продолжительность опыта, мин;

$a$  и  $b$  - количество  $0,1 \text{ н}$  щавелевой кислоты, израсходованной на титрование барита в контрольном и опытном варианте, мл;

$K$  - поправка к титру раствора щавелевой кислоты;

$2,2$  - количество  $\text{CO}_2$ , мг, соответствующее 1 мл  $0,1 \text{ н}$  раствора щавелевой кислоты;

$n$  - масса сухих семян, г.

Результаты опыта записывают в таблице:

Темпер., °С	Навеска семян	Объем барита, мл	Количество щавелевой кислоты, пошедшей на титрование, мл		Интенсивность дыхания, мг CO <sub>2</sub> на 1г сем. за 1 ч.
			контроль	опыт	
10					
20					
40					

**Материалы и оборудование.** Сухие и проросшие семена пшеницы, ячменя, кукурузы, 0,1 н раствор гидроксида бария, 0,1 н раствор щавелевой кислоты, 1 %-й раствор фенолфталеина, колбы плоскодонные на 1 дм<sup>3</sup>, стеклянные пипетки на 10 см<sup>3</sup> (3 шт.), бюретка на 25 см<sup>3</sup>, глазная пипетка, аспирационная установка, пробки с малым отверстием к колбам (2 шт.), дозатор, весы торсионные, термостат, насос.

#### Работа 4. Определение интенсивности дыхания сухих и проросших семян

Интенсивность дыхания в значительной мере определяется физиологическим состоянием растительного организма. Минимальным дыханием характеризуются семена, находящиеся в состоянии покоя. При переходе их в состояние активного прорастания дыхание усиливается, и значительная его интенсивность при этом объясняется процессами новообразования клеток и формированием их протоплазмы. В этом можно убедиться при сравнительном изучении интенсивности дыхания сухих и проросших семян сельскохозяйственных культур.

**Ход работы.** Навески сухих и проросших семян в 2 г помещают в два марлевых мешочка и прикрепляют к пробкам при помощи вставленных в них крючков. Пробки вставляют в конические колбы, куда предварительно наливают по 10 мл 0,12 н раствора Ва(ОН)<sub>2</sub> так, чтобы с семенами не достигали раствора щелочи.

Третья колба с таким же количеством барита служит контролем, и семена в нее не помещают. Отмечают время постановки



опыта и все три колбы на 1 час оставляют при комнатной температуре. На протяжении опыта колбы периодически осторожно покачивают, чтобы разрушить пленку  $\text{BaCO}_3$ , образующуюся на поверхности барита и препятствующую полному поглощению  $\text{CO}_2$ .

Через 1 час вынимают мешочки с семенами из колб, вновь плотно прикрыв их пробками. Все три колбы, начиная с контрольной титруют 0,1 н раствором щавелевой кислоты в присутствии 2-3 капель фенолфталеина до слабо – розового окрашивания, исчезающего от одной капли кислоты.

Интенсивность дыхания рассчитывают по формуле:

$$J = \frac{(a - b) K \times 2,2}{M \times n \times t} \text{ мг } \text{CO}_2 \text{ г/час,}$$

где: а и б – количество 0,1 н раствора щавелевой кислоты, израсходованного на титрование барита соответственно в контрольном и опытном вариантах, мл;

К – поправка к титру 0,1 н раствора щавелевой кислоты;

2,2 – количество  $\text{CO}_2$ , соответствующее 1 мл 0,1 н раствора щавелевой кислоты, мг;

n – масса 1000 семян, г.

Результаты опыта записывают в таблицу:

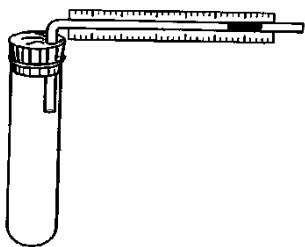
Семена	Навеска семян, г	Объем барита, мл	Кол-во щавелевой кислоты, пошедшей на титрование, мл.		Интенсив. дыхания мг $\text{CO}_2$ на 1 г семян за час
			контроль	опыт	
Сухие Пророс.					

**Материалы и оборудование:** сухие и проросшие семена пшеницы; 0,1 н раствор барита; 0,1 н раствор щавелевой кислоты; 1% - й раствор фенолфталеина; весы с разновесами; конические колбы на 250 мл с пробками; марлевые мешочки.

## Работа 5. Определение дыхательного коэффициента прорастающих семян

Дыхательным коэффициентом (ДК) называется отношение объема выделенного  $\text{CO}_2$  к объему поглощенного кислорода. Величина ДК свидетельствует об интенсивности в декарбоксилирующих звеньях в цикле Кребса. Основным фактором влияющим на величину ДК является химическая природа дыхательных субстратов. При окислении углеводов ДК равен 1, при окислении органических кислот, являющихся менее восстановленными, чем углеводы, ДК больше 1. Прибор для определения дыхательного коэффициента (рис.1.) состоит из пробирки с плотно пригнанной каучуковой пробкой, в которую вставлена под прямым углом градуированная трубка.

**Ход работы.** Половину пробирки заполняют прорастающими семенами подсолнечника и плотно закрывают пробкой с измерительной трубкой. В трубку с помощью пипетки вводят каплю окрашенной жидкости (вода с метиленовой синью), создав таким образом внутри прибора замкнутую атмосферу. Чтобы пробирка не нагревалась от прикосновения рук, ее ставят в штатив или в стакан с водой, измеряют на сколько делений шкалы продвинется капля внутри трубки за 2 минуты. Делают несколько отсчетов и вычисляют среднюю величину.



**Рис.1. Установка для определения дыхательного коэффициента.**

Полученная величина (А) является выражением разницы между объемами поглощенного кислорода и выделенной углекислоты. Далее открывают пробирку с семенами и выкладывают в нее пинцетом полоску из фильтровальной бумаги, смоченной 20%

NaOH. Снова заигрывают пробирку пробкой и вновь вводят в трубку каплю жидкости. Отмечают положение мениска капли, определяют передвижение капли при той же температуре за тот же период и вычисляют среднюю величину (В). Величина «В» служит выражением поглощенного при дыхании кислорода, так как выделенный CO<sub>2</sub> поглощается щелочью.

Дыхательный коэффициент равен:

$$\frac{CO_2}{C_2} = \frac{B - A}{B}$$

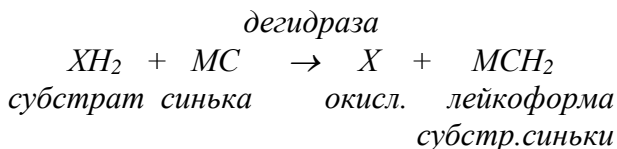
Результаты записываю в таблицу:

Объект	Условия опыта	Отсчеты, мм за 2 мин.			ДК= $\frac{B-A}{B}$
		1	2	3	
	Без щелочи (А) Со щелочью (В)				

**Материалы и оборудование:** прорастающие семена подсолнечника, прибор для определения дыхательного коэффициента, пинцет, полоски фильтровальной бумаги, песочные часы на 2 мин, штатив, стакан с водой, 20% раствор NaOH.

### Работа 6. Обнаружение дегидрогеназы в растениях

Обнаружение и определение дегидрогеназ основано на их способности за счет дегидрирования органических соединений восстанавливать в анаэробных условиях краски с низким окислительно-восстановительным потенциалом. В качестве такого индикатора применяется метиленовая синька, восстановление которой происходит по схеме:



**Ход работы.** Семена набухшего гороха освобождают от семенной оболочки и делят на две части по 10 штук. 10 штук семян кипячением в пробирке с водой в течение 10 мин, убивают. Вторую часть семян из 10 штук в пробирке заливают раствором метиленовой синьки. С первой партии сливают воду, их также заливают метиленовой синькой. Через 10 мин. С обеих партий семян сливают краску, семена промывают водой. Для создания анаэробных условий пробирки до верха заливают холодной кипяченой водой и закрывают пробками. Затем пробирки ставят на водяную баню на 2 часа при температуре 30°C. За это время живые семена потеряют синюю окраску, так как дегидразы участвующие в дыхании клеток, сняли водород с дыхательного материала в семенах и перенесли его на метиленовую синьку, которая восстановилась в лейкоформу и обесцветилась.

Затем из обеих пробирок выливают воду, семена высыпают в фарфоровые чашки и оставляют на воздухе. При этом живые семена вновь посинеют, так как синька переходит в окисленную форму.

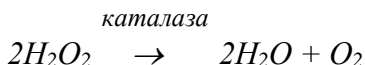
В контрольной пробирке убитые семена остаются все время синими, так как при кипячении семян дегидразы разрушились.

Наблюдаемое в опыте зарисовывают цветными карандашами.

**Материалы и оборудование:** набухшие семена гороха, пробирки, штатив, фарфоровые чашки, водяная баня, электроплитка, термометр, раствор метиленовой синьки 1:10000, пробки к пробиркам.

## **Работа 7. Обнаружение каталазы в растительных объектах**

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



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

**Ход работы.** Кусочек очищенного клубня картофеля измельчают и растирают в фарфоровой ступке с небольшим (2-3мл) количеством дистиллированной воды. Затем прибавляют еще 8-10 мл воды, тщательно перемешивают и фильтруют ее в сухую пробирку. Непосредственно для работы используют 3-4мл полученной вытяжки, оставшаяся часть служит контролем. К вытяжке добавляют 2мл 3%-ного раствора перекиси водорода. Через несколько минут появление пузырьков кислорода и скопление их на поверхности раствора в виде пены свидетельствует о наличии в тканях клубня картофеля фермента каталазы.

В качестве второго объекта исследуют листья комнатного растения. Из листовой пластинки вырезают маленький кусочек и кладут на предметное стекло в каплю перекиси водорода. Через несколько минут изучают приготовленный препарат. Под микроскоп. По интенсивности образования пены судят об активности каталазы в рассмотренных растительных объектах.

**Материалы и оборудование:** клубни картофеля, листья герани, фарфоровая ступка с пестиком, 3%-ый раствор перекиси водорода, воронка, фильтровальная бумага, пробирки, микроскоп, предметные и покровные стекла, лезвия.

#### **Тема 4. ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ**

Вода является не только основной средой, где осуществляется все биохимические процессы, но и структурным компонентом живого вещества. Вода обеспечивает поглощение солей и передвижение растворов по тканям, обуславливает коллоидное состояние цитоплазмы клеток, тургор растительных тканей. Большая теплоемкость воды защищает растительные ткани от перегрева, высокая теплота парообразования надежно стабилизирует температуру растительного организма. Для засушливых районов особое значение имеет высокая степень конденсации воды, так как урожай здесь в значительной степени формируется за счет конденсационной влаги.

Подъем и передвижение воды в растении осуществляется в результате функционирования двух «двигателей» водного потока – корневого давления и присасывающей силы транспирации, а также сил межмолекулярного сцепления воды. Корневое давление возникает в результате активного всасывания корнем воды из почвы и нагнетания ее в растение. Механизм корневого давления обусловлен как осмотическими явлениями, присущими растительным клеткам, так и активными ритмическими сокращениями самих клеток корня. Транспирация, представляющая собой сложный саморегулирующий физиологический процесс, использует в качестве источника энергии солнечную радиацию и по силе, как правило, превосходит «нижний двигатель». Основную функциональную нагрузку при транспирации выполняют устьичные клетки, характеризующиеся рядом структурно-функциональных особенностей. В процессе устьичной регуляции транспирации ведущую роль, согласно современным представлениям, играет работа калиевых ионных насосов.

Соотношение между приходом и расходом воды в растениях – водный баланс – служит физиологическим контролем за водообеспеченностью растений и позволяет регулировать водный режим растений в условиях орошения путем полива, богарном же земледелии за счет мероприятий, обеспечивающих максимальное накопление влаги в почве и экономное ее расходование. Исходным

показателем для определения водного баланса является суммарное водопотребление за период вегетации растений. Познание закономерностей водного обмена необходимо для разработки рациональных агротехнических приемов, направленных на получение устойчиво высоких урожаев.

### **Работа 1. Формы воды в растениях**

По состоянию воду принято делить на свободную и связанную. Свободная вода в растительных тканях не удерживается какими-либо силами, свободно передвигается по растению и является расходуемой частью воды. Она участвует в процессах и передвижениях. Испаряясь в ходе транспирации, свободная вода способствует стабилизации температурного режима растений.

Связанная вода удерживается осмотическими и коллоидными силами. Коллоидно-связанная вода обуславливает агрегативную устойчивость коллоидов, способствует преодолению растениями различных неблагоприятных факторов окружающей среды.

**Ход работы.** У листьев определенного яруса пробочным сверлом берут по 20 высечек на каждом листе с площадью 0.5 см<sup>2</sup>. 100 таких высечек помещают по 10 штук в бюксы с 3мл раствора сахарозы (предварительно взвешенные) и закрывают плотно крышкой, а 100 высечек по 10 штук помещают в пустые взвешенные сухие бюксы и взвешивают. Бюксы с высечками без сахарозы помещают в сушильный шкаф при температуре 100-105<sup>0</sup>С, затем определяют общее содержание воды в листьях.

Бюксы с высечками и сахарозой оставляют на 6 часов при комнатной температуре. Затем с помощью рефрактометра определяют % сахарозы в результате отнятия воды от высечек показывает наличие свободной воды в листьях.

Пример расчета:

% сахарозы исходного раствора 69.9%

% сахарозы опытного раствора (бюксы с высечками) 63.0%

Вес 3мл исходного раствора сахарозы – 3.8992г

Вес сахарозы в исходном растворе =

$$\frac{3.8992 \times 69.9}{100} = 2.7138$$

$$\text{Вес опытного раствора} = \frac{2.7138 \times 100}{63} = 4.3077$$

Увеличение веса опытного раствора

$$4.3077 - 3.8992 = 0.4085$$

Вес сырых высечек – 0.6718 г.

$$\% \text{ свободной воды на сырой вес} = \frac{0.4085 \times 100}{0.6718} = 60.8\%$$

Содержание общей воды по прямому определению в термостате при расчете на сырой вес - 82.5%.

Отсюда количество связанной воды = 82.5% - 60.8% = 21.7%.

Если же определения произвести 2 раза в день, (утром и днем) то при разности между определениями можно судить о наличии водного дефицита. Полученные данные записывают в виде следующих таблиц:

### 1. Определение общей воды в листьях

Растение	Масса бюкса, г		Вес сырых высечек, г	Масса бюкса с высечками после высушивания, г	Вес высечек после высушивания, г	Кол-во исп. воды, г	% общей воды
	пустого	с высечками					

### 2. Определение свободной воды в листьях

3.

Растение	Масса бюкса, г			Масса 3мл сахарозы, г	Масса высечек, г	Концентрация раствора сахарозы, %		Кол-во свободной воды, г	% свободной воды
	пустого	С 3мл сахарозы	С сахарозой и высеч.			исходная	После опыта		



**Материалы и оборудование:** раствор сахарозы 70%, рефрактометр, бюксы, весы и разновесы, сушильный шкаф, пипетки на 3 мл, пробочные сверла.

## **Работа 2. Сравнение транспирации верхней и нижней сторон листа хлоркобальтовым методом**

Испарение воды с поверхности листьев главным образом происходит через устьица. Устьица составляют не более 1% всей площади листа. У большинства растений устьица преимущественно расположены на нижней стороне листа. Поэтому с нижней стороны листьев происходит и наиболее интенсивное испарение воды в виде транспирации.

Если прижать высушенный кусок фильтровальной бумаги, пропитанной хлористым кобальтом, то бумага, поглощая выделяющиеся в процессе транспирации водяные пары, будет менять свою окраску из голубой (цвет сухого  $\text{CoCl}_2$ ) в розовую (цвет  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). По скорости порозовения можно приблизительно судить об интенсивности транспирации.

**Ход работы.** Над электроплиткой просушивают куски хлоркобальтовой бумаги до ярко-голубого цвета. Затем, такие бумажки прикладывают к верхней и нижней сторонам листа. Лист зажимают в месте с наложенной на него кусками бумаги с обеих сторон двумя стеклянными пластинками. Наблюдают, через сколько минут порозовеют хлоркобальтовые бумажки на верхней и нижней сторонах листа. По скорости порозовения определяют, с какой стороны листа испарение идет быстрее.

Результаты опыта записывают по схеме:

Сторона листа	Время наблюдение		Время порозовения бумажки (мин)
	Начало опыта	Конец опыта	
Верхняя			
Нижняя			

**Материалы и оборудование:** герань, хлоркобальтовые бумажки, стеклянные палочки, пинцет.

### **Работа 3. Изучение интенсивности транспирации у срезанных листьев при помощи торзионных весов**

Метод основан на учете изменений массы срезанного транспирирующего листа за короткие промежутки времени, что дает возможность наблюдать транспирацию при том состоянии насыщения листа водой, в каком он находился на растении.

Интервал между взвешиваниями не должен превышать 5 мин. При более длительной экспозиции уменьшается содержание воды в листе и снижается интенсивность транспирации. Для быстрого взвешивания используют торзионные весы (рис.1.).



**Рис.1. Торзионные весы**

**Ход работы.** Торзионные весы устанавливают строго горизонтально по уровню при помощи двух винтов на подставке весов. С опытного растения срезают лист среднего яруса, надевают его на крючок, находящийся сбоку в закрытой камере и быстро взвешивают. Затем лист подвешивают на подставку. Таким образом взвешивают листья одного и того же яруса с 10 растений. Время первоначального взвешивания каждого листа записывают и через 5 минут взвешивания их повторяют. Убыли в весе листьев между пер-

вым и вторым взвешиванием показывает, сколько воды испарилось за этот период.

Результаты опыта записывают по схеме:

Масса листьев,	Повторность										Суммар- ный вес 10 листь- ев, мг	Потеря воды 10 листья- ми, мг	Интенсивность транспирации, мг.г/час
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			

**Материалы и оборудование:** проростки растений (кукуруза, подсолнечник, овес), торзионные весы, ножницы, подставка для взвешивания листьев.

#### **Работа 4. Определение интенсивности транспирации и относительной транспирации с помощью технических весов**

Интенсивность транспирации – количество воды, испарившейся с единицы листовой поверхности в единицу времени. Величина ее зависит от внешних факторов, времени суток и колеблется в пределах 15...250 г /( $\text{м}^2$  ч). Метод основан на учете потери воды при испарении. Можно изучать транспирацию целого растения или отдельных его частей.

**Ход работы.** Лист определенного яруса срезают вместе с черешком. Нижний конец черешка подрезают под водой для сохранения целостности водных нитей в проводящих сосудах. Затем черешок листа погружают в пробирку с водой (специально смонтированной для взвешивания на технических весах) Пространство вокруг черешка закрывают ватой для устранения физического испарения с поверхности воды. Пробирку с водой и листом взвешивают на технических весах и оставляют на 1 час. По истечении времени экспозиции взвешивание повторяют. По разности с первоначальным весом устанавливают количество воды, которое испарил лист за время опыта.

На основании полученных результатов рассчитывают интенсивность транспирации, т.е. количество воды в граммах, которое испаряет единица листовой поверхности ( $1\text{м}^2$ ) в единицу времени (1 час).

Для определения площади листа, используют метод полевой диагностики.

Интенсивность транспирации рассчитывают по формуле:

$$Tr. = \frac{1000 \times C}{S \times t} = (\text{г/м}^2/\text{час}), \text{ где:}$$

C - убыль в весе за время опыта, г

S – площадь листа, см<sup>2</sup>,

T – продолжительность опыта, час.

### **Работа 5. Скорость передвижения воды по растению**

Передвижение воды является важным звеном общего водообмена. Здесь участвуют нижние и верхние двигатели водного тока, представленные корневым давлением и присасывающей силой листьев.

Передвижение водного тока по растению осуществляется как по живым клеткам (корня и листа), так и по проводящим сосудам, лишенным протоплазмы. Движение по этим путям происходит по различным закономерностям и поэтому существенно различается и по скорости.

Для изучения скорости передвижения воды используют растения фасоли (высевают за 2-3 недели до опыта в ящики или горшки) или растения глухой крапивы (летом).

**Ход работы.** В пробирку наливают 1-1.5 см<sup>3</sup> воды, предварительно окрашенной небольшим количеством эозина. Затем берут горшок с растениями фасоли, выкапывают растение с корнями и корни погружают в воду.

Под водой острой бритвой отрезают корни, обрезанный стебель придерживают в воде несколько секунд, затем быстро вставляют срезанной частью в пробирку с окрашенной эозином водой и засекают время. Окрашенный раствор под действием всасывающей силы листьев будет подниматься по сосудам, окрашивая их. Через 2-5 мин растение быстро вынимают из пробирки, обрывают листья и лезвием разрезают стебель на отрезки длиной 2-3 см. Следить, чтобы отрезки не сдвинуть со своих мест и не спутать их очередность.

Из каждого отрезка с одного его конца делают поперечный тонкий срез и кладут на предметное стекло, располагая срезы в таком же порядке, как лежат отрезки. После этого срезы рассматривают под микроскопом. Необходимо установить, на какую высоту поднялась вода за время опыта. Окрашенная вода на своем пути окрашивает стенки сосудов, что очень хорошо просматривается под микроскопом. Как только нашли срез, где сосуды еще не окрашены, определяют высоту поднятия воды за время опыта и вычисляют скорость передвижения воды за 1 час.

Чтобы показать скорость движения воды по живым клеткам корня, такой же опыт следует проделать с растением фасоли с корневой системой.

Для этого берут широкий сосуд, наливают окрашенный эозин-ом раствор, в который опускают растений так, чтобы нижняя часть корня была погружена в раствор. Растение прикрепляют на штативе и оставляют на 30 мин. Затем проделывают все то же, что и в первом случае, разрезается стержневой корень и стебель на отрезки.

Сравнить скорость движения воды по стеблю к корню. Результаты наблюдений записывают в виде таблицы:

Объекты	Время в минутах						Скорость движения воды, м/час
	1	2	3	4	5	30	
	Поднятие воды, см						
Стебель						-	
Корень	-	-	-	-	-	-	

**Материалы и оборудование:** Растения фасоли (25-30 дневные), раствор эозина, лезвия, микроскопы, стекла предметные, стекла(5х15 см), штатив с пробирками, чашки Петри.

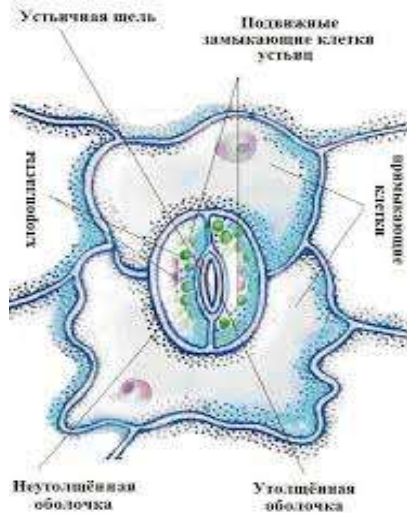
### Работа 6. Наблюдение за движением устьиц

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, от-

крывая 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. Гидроактивные закрывания устьиц связаны 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, закрыванию устьиц. Фотоактивное открывание устьиц состоит в увеличении ширины устьичной щели при повышении интенсивности освещения (главная роль при этом отводится синему цвету).

**Цель работы.** Наблюдать за устьичными движениями в воде и растворе глицерина.

**Ход работы.** Приготовить несколько срезов нижнего эпидермиса листа и поместить их на 2 ч в 5%-ный раствор глицерина. Глицерин проникает в вакуоли замыкающих клеток, понижает их водный потенциал и, следовательно, повышает их способность поглощать воду. Срезы помещают на предметное стекло в том же растворе, отмечают состояние клеток и зарисовывают их (рис.1.)



**Рис.1. Устьичные клетки**

Заменить глицерин на воду, оттягивая из-под стекла фильтровальной бумагой. При этом должно наблюдаться открывание устьичных щелей. Препарат зарисовать. Заменить воду 20%-ным раствором глицерина или 1 М раствором сахарозы. При этом должно наблюдаться закрывание устьиц.

Зарисовать устьица в воде и водных растворах глицерина (сахарозы). В выводах объяснить причину устьичных движений.

**Материалы и оборудование.** Растворы глицерина (5%-ный и 20%-ный или 1 М раствор сахарозы); микроскопы; покровные и предметные стекла; фильтровальная бумага; бюкс; листья комнатных растений (вид указывает преподаватель).

## **Тема 5. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ**

Все процессы жизнедеятельности, в том числе фотосинтез, невозможны без участия минеральных веществ, извлекаемых растениями из почвы. Минеральные вещества непосредственно влияют на состояние протопласта растительных клеток, участвуют в ферментативных реакциях, играют роль в изменении тургора и проницаемости цитоплазмы, служат центрами электрических явлений в растительном организме. Поэтому интенсивность роста растений, а следовательно, и урожайность с/х культур, в значительной степени определяется условиями почвенного питания.

Поглотительная способность корня зависит как от степени его развития, так и от формы содержащихся в почве элементов питания и условий окружающей среды. Процесс поглощения веществ условно делится на две фазы – фазу адсорбции ионов поверхностью цитоплазматической мембраны и клеточной стенки и фазу проникновения ионов через плазмалемму. Корень является методом синтеза ряда фитогормонов, фосфорных эфиров триоз и гексоз, веществ вторичного происхождения.

Основные элементы питания – азот, фосфор и калий заметно влияют на внешний облик, темпы роста и развития растений, т.е. играют формообразующую роль. Азот, в частности, имеет чрезвычайно большое значение в жизни растений – он является обязательным компонентом аминокислот и белков, хлорофилла, нуклеиновых кислот, многих ферментов, витаминов, фитогормонов и других жизненно важных соединений. Любые удобрения, содержащие азот, – органические или минеральные, в почве превращаются в основном в нитраты. Растворенные нитраты восстанавливаются в растении до аммония и включаются в состав органических соединений. При чрезмерном увеличении удобрениями растения не справляются с азотным питанием и нитраты не накапливаются в них. Избыток нитратов в растительной продукции токсически воздействуют на организм человека или животного, употребившего эти продукты в пищу. Повышенное содержание нитратов отрицательно сказывается и на сохранности самих растительных продуктов.



В процессе роста и развития меняется потребность растений в каждом из элементов питания. Например, на ранних этапах онтогенеза для интенсивного формирования ассимилирующих органов растению необходимо больше азота и калия, а к началу закладки репродуктивных органов – больше фосфора, что связано прежде всего с усилением энергетического обмена. Посредством регуляции минерального питания можно существенно влиять на наступление сроков цветения и плодоношения, активность образования вегетативной массы, образование женских и мужских цветков у растений. Все это следует учитывать при использовании интенсивных технологий.

### **Работа 1. Влияние отдельных элементов питательной смеси на рост растений**

Исключение любого из макро- и микроэлементов приводит к расстройству структур и обмена веществ растений, торможению их роста и в последующем - к гибели. Однако видимые повреждения проявляются не сразу и не одновременно. Наиболее быстро сказывается исключение азота и кальция: первого из-за неспособности к повторному использованию или реутилизации. К неретутилизируемым или трудно утилизируемым минеральным элементам относятся многие микроэлементы, кроме бора, селена, мышьяка, высокой степени реутилизации отличаются азот, фосфор, сера, калий, натрий, в меньшей степени – магний. Поэтому недостаток перечисленных элементов проявляется в длительных опытах (более двух недель).

**Ход работы.** Работу проводят в определенном плане. Подыскивают стеклянные сосуды, тщательно моют, монтируют и подбирают соответствующие крышки для сосудов. Определяют качество посевного материала, а также готовят питательные растворы для водных культур. В качестве питательной смеси для водных культур используют широко применяемую питательную смесь Кнопа.

В том случае, если нужно исключить отдельные элементы, например:

- 1) из смеси исключить калий, то соль  $\text{KН}_2\text{РO}_4$  заменяют  $\text{NaН}_2\text{РO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , а соль  $\text{KCl}$  заменяют  $\text{NaCl}$ ;
- 2) смесь с исключением фосфора:  $\text{KН}_2\text{РO}_4$  заменяют  $\text{KCl}$ ;

3) смесь с исключением азота:  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  заменяют  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

### Полный питательный раствор Кнопа

Название солей	Химическая формула	На 1 л воды в г
Азотнокислый кальций	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	1.00
Калий фосфорнокислый	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.25
Сернокислый магний	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25
Хлористый калий	$\text{KCl}$	0.125
Хлорное железо	$\text{Fe}_2\text{Cl}_6$	0.125

Таким образом, закладка опыта состоит в приготовлении питательных смесей, посадки растений в банки или стеклянные сосуды. Подготовленные проростки высаживают в специальные отверстия приспособленной для этой цели полиэтиленовой крышки, укрепляя их кусочками негигроскопической влаги. Смонтированной таким образом крышкой закрывают банку, погрузив при этом корни растений в питательный раствор (рис.1.).



**Рис.1. Проросток в цилиндре с питательным раствором**

Затем, имитируя почвенные условия, закрывают корни от света, обернув банку непроницаемым черным бумажным чехлом.

Снаружи банку оборачивают, листом белой бумаги, закрепив его тонким шпагатом и обозначив на нем вариант опыта, фамилии студентов, поставивших опыт, и номер учебной группы.

Банки с растворами ставят на хорошо освещенное место и ведут за ними систематические наблюдения. Рекомендуется периодически продувать растворы с помощью резиновой груши и по мере надобности доливать дистиллированную воду. Через 2-3 недели проводят учет результатов опыта. Полученные данные заносят в таблицу, анализируют, делают выводы.

**Материалы и оборудование:** 10-дневные проростки злаковых растений, реактивы, мерные цилиндры на 1 л, весы технические, стаканы химические, стеклянные банки на 0.5 литра, материал для чехлов, тонкий шпагат, стеклянные палочки и трубочки, груши для продувания растворов, дистиллированная вода.

## Работа 2. Антагонизм ионов

Смягчающее влияние, оказываемое одним катионом на действие другого катиона, называют *антагонизмом ионов*. Антагонизм ионов проявляется как между разными ионами одной валентности (например,  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ ), так и между ионами разной валентности ( $\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$ ). **Ход работы.** В 4 занумерованные чашки Петри укладывают кружки фильтровальной бумаги и раскладывают на них по 20 наклюнувшихся зерен ячменя (рис.1.).



**Рис.1. Чашка Петри с наклюнувшимися семенами пшеницы**

В первую чашку Петри наливают 15 мл 0.12 н раствора KCl, во вторую – 15 мл CaCl<sub>2</sub>, в третью – 13 мл KCl + CaCl<sub>2</sub>, в четвертую – 15 мл дистиллированной воды. Все чашки закрывают и ставят в темный шкаф при комнатной температуре на неделю. Через 2-3 дня чашки рекомендуется открыть и проветрить. Через неделю измеряют длину всех корешков, обобщают результаты, делают выводы.

**Материалы и оборудование:** растворы химически чистых солей, наклюнувшиеся зерна ячменя, чашки Петри, пинцет, фильтровальная бумага, линейка, восковой карандаш.

### **Работа 3. Физиологически кислые и щелочные соли**

*Физиологически кислыми* называют соли, из которых растения в основном усваивают катионы, а анионы, которые остаются в растворе, подкисляют почвенную среду.

*Физиологически щелочными* называют соли, из которых растения усваивают преимущественно анионы, а катионы, остаются в растворе, подщелачивают грунтовую среду.

**Ход работы.** В одну пробирку наливают раствор NaNO<sub>3</sub>, а в другую - раствор NH<sub>4</sub>Cl (примерно по 18 мл). Определяют исходную pH раствора с помощью универсального индикатора. Высаживают в каждую пробирку по 3-4 проростка, закрепляя их ватной пробкой. Каждую пробирку покрывают черной бумагой, чтобы предохранить раствор и корни растений от действия света, а сверху обертывают листом белой бумаги, соответственно этикетированной (название соли, фамилии, номер группы). Все пробирки ставят в штатив и размещают на хорошо освещенном месте. Через 1-2 недели вновь определяют величину pH раствора, делают выводы.

**Материалы и оборудование:** проростки ячменя или пшеницы, растворы NaNO<sub>3</sub> и NH<sub>4</sub>Cl (по 0.2 г на 1л), пробирки, вата, темная бумага, фарфоровая чашка, универсальный индикатор, тонкий шпагат.

### **Работа 4. Определение содержания нитратов в растениях и различных его органах**

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.

**Ход работы.** Кусочек черешка и листовой пластинки исследуемого растения разминают в фарфоровой ступке. Одну каплю сока, полученного при растирании каждого кусочка ткани, смешивают с каплей дифениламина в серной кислоте. При наличии в тканях растения нитратов наблюдается посинение данной смеси. Существует коррелятивная зависимость между интенсивностью посинения и количеством нитратов в тканях. Исследуют 2-3 разных растения или одно растение, выращенное в разных условиях водного режима, минерального питания, интенсивности освещения и т.д.

**Материалы и оборудование:** растения, раствор дифениламина в серной кислоте, фарфоровая ступка, стеклянная палочка, фарфоровая пластинка, фильтровальная бумага, лезвия.

### **Работа 5. Микрохимический анализ золы**

В различных органах растений содержится разное количество элементов минерального питания: в листьях – 10 – 15 %, в семенах – около 3 %, в древесине – около 1 %. Это связано в первую очередь с отличиями в метаболической активности различных типов тканей. На содержание минеральных элементов также оказывает влияние состав и влажность почв, видовые особенности, влияющие на поглощение солей, возраст растений.

Микрохимический анализ позволяет установить количественные и качественные отличия состава золы разных органов. В его основе лежит способность некоторых реактивов при взаимодействии с зольными элементами давать соединения, отличающиеся специфической окраской или формой кристаллов (рис. 9).

**Ход работы.** Насыпьте в пробирку небольшое количество пепла и залейте его 4-кратным объемом 10 %-го раствора соляной кислоты. Отфильтруйте полученный раствор через складчатый фильтр.

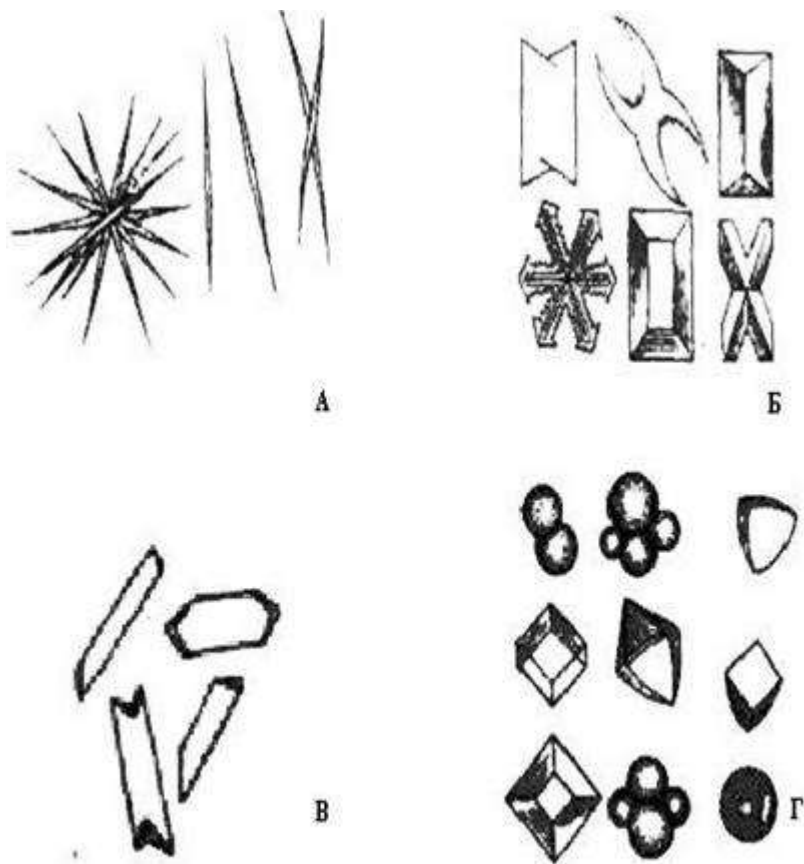


Рис. 9. Типичные формы кристаллов:  
 А) сульфата кальция;  
 Б) фосфорноаммиачномагnezийной соли;  
 В) кислого виннокислого калия;  
 Г) фосфорномолибденовокислого аммония

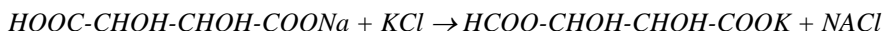
Полученный фильтрат используйте для качественного анализа на наличие ионов калия, кальция, серы, фосфора, магния, железа. Для этого на предметное стекло на расстоянии 0,5 см друг от друга нанесите каплю фильтрата и каплю реактива на соответствующий ион (см. ниже). Каждый реактив наносите отдельной стеклянной палочкой или пипеткой. Соедините эти капли с помощью стеклянной палочки дугообразным каналом. Через 15 мин рассмотрите по-

лученные препараты под микроскопом на малом увеличении. Отметьте форму и окраску наблюдаемых кристаллов. Результаты запишите в таблицу.

### Микрохимический анализ золы растений

Обнаруживаемый элемент	Реактив (формула, концентрация)	Полученное вещество (формула)	Форма кристаллов (рисунок)
------------------------	------------------------------------	----------------------------------	-------------------------------

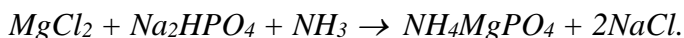
Реактив на ионы  $K^+$ : 1 %-й раствор кислого виннокислого натрия.



Кристаллы кислого виннокислого калия имеют вид крупных призм.

Реактив на ионы  $Ca^{2+}$ : 1 %-й раствор серной кислоты. В результате реакции  $CaCl_2 + H_2SO_4 \rightarrow CaSO_4 + 2HCl$  образуется гипс, который имеет вид игольчатых кристаллов и пучков игольчатых кристаллов.

Реактив на ионы  $Mg^{2+}$ : 1 %-й раствор фосфорнокислого натрия. Для проведения этой реакции полученную вытяжку предварительно нейтрализуют аммиаком. Для этого в каплю вытяжки внесите каплю 10 %-й аммиачной воды и только после этого нанесите на предметное стекло необходимый реактив. Реакция идет по следующему уравнению:

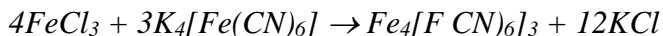


Кристаллы фосфорноаммиачномagneзиевой соли имеют вид ящичков, крышек, звезд или крыльев.

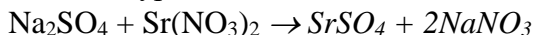
Реактив на ионы  $PO_4^{3-}$ : 1 %-й молибдат аммония в 15 %-й азотной кислоте. При этом образуется зелено-желтый кристаллический осадок фосфорно-молибденовокислого аммония, который со временем приобретает все более интенсивную зеленую окраску:



Реактив на ионы  $Fe^{3+}$ : желтая кровавая соль. В результате этой реакции образуется берлинская лазурь (голубое окрашивание):



Реактив на  $SO_4^{2-}$ : 1 %-й раствор азотнокислого стронция. Реакция идет по уравнению:



Образуются мелкие закругленные кристаллы, чаще в виде многогранных пластин.

Сделайте вывод о наличии обнаруженных элементов и укажите причины различного содержания ЭМП в органах растений.

**Материалы и оборудование.** Древесный пепел, зола, полученная при сжигании листьев древесных растений, 10 %-й раствор соляной кислоты, 1 %-й раствор кислого виннокислого натрия, 1 %-й раствор серной кислоты, 1 %-й раствор фосфорнокислого натрия, 10 %-й раствор аммиачной воды, 1 %-й молибдат аммония в 15 %-й азотной кислоте, желтая кровавая соль, 1 %-й раствор азотнокислого стронция, химическая пробирка (2 шт.), стеклянная воронка малая, предметные стекла (6 шт.), стеклянные трубочки (7 шт.), стеклянные палочки (6 шт.) фильтровальная бумага, бумажный фильтр, шпатель металлический, ножницы, штатив для пробирок, спиртовка, микроскоп «Биолам 70-Р».

### **Работа 6. Диагностика заболеваний растений при голодании по элементам минерального питания**

Распознавание признаков голодания растений, вызываемых недостатком элементов минерального питания крайне важно для устранения признаков заболевания путем своевременной подкормки. Симптомы недостаточности минерального питания растений можно разделить на две группы:

*Первую группу* составляют главным образом симптомы, проявляющиеся на старых листьях растения. К ним относятся симптомы недостатка азота, фосфора, калия, цинка и магния. Очевидно, при недостатке в почве указанных элементов они перемещаются в



растении из более старых частей в молодые растущие части, на которых не развиваются признаки голодания.

*Вторую группу* составляют симптомы, проявляющиеся в точках роста и на молодых листьях. Симптомы этой группы характерны для недостатка кальция, бора, серы, железа, меди и марганца. Приступая к определению причины нарушения питания растений, следует прежде всего обратить внимание на то, в какой части растения проявляются аномалии, определяя, таким образом, группу симптомов. Симптомы *первой группы*, которые обнаруживаются главным образом на старых листьях, могут быть разбиты на две подгруппы: 1) в большей или меньшей степени общие (недостаток азота и фосфора); 2) локальные – носят местный характер (недостаток магния, цинка и калия).

*Вторая группа* симптомов, проявляющихся на молодых листочках или точках роста растения, может быть разбита на три подгруппы, которые характеризуются: 1) появлением хлороза, или потерей молодыми листьями зеленой окраски без последующей гибели верхушечной почки, что указывает на недостаток железа, серы либо марганца; 2) гибелью верхушечной почки, сопровождающейся потерей ее листьями зеленой окраски, что указывает на недостаток кальция либо бора; 3) постоянным увяданием верхних листьев, что указывает на недостаток меди.

**Цель работы:** диагностика заболеваний растений при голодании по элементам минерального питания

**Ход работы.** Заранее собирают больные листья и поврежденные побеги различных растений. При помощи преподавателя и с использованием имеющихся атласов, пособий и таблицы ставят диагноз заболевания растений.

Признаки заболеваний растений при голодании по элементам питания:

- *азота* – бледно-зеленая окраска нижних листьев, листья мелкие, стебель тонкий, хрупкий, пожелтение и побледнение листа начинается с жилок и прилегающих к ним областей, на листе пожелтевшим от недостатка азота нет зеленых жилок; усиливать азотное голодание могут кислые почвы.

- *фосфора* – темно-зеленая, голубоватая окраска листьев, замедляется рост, усиливается отмирание листьев, задерживается цвете-

ние и созревание, при сильном голодании появляются бурые или красно-бурые пятна превращающиеся в дыры; чаще всего встречается на легких кислых почвах с малым содержанием органики.

- *калия* – пожелтение, побурение кончиков листа, закручивание краев листьев к низу, развивается бурая пятнистость, особенно по краю листа, жилки кажутся погруженными в ткань листа; признаки калийного голодания ярко выражены на сильнокислых почвах и при избыточном внесении кальция и магния.

- *магния* – осветление листьев, между жилками появляются пятна белого, бледно-желтого цвета изменение окраски в желтую, красную, фиолетовую, при этом жилки и прилегающие к нему части остаются зеленого цвета, кончик листа и края заггибаются, морщинят, лист приобретает выгнутую форму; ярко проявляется на легких кислых почвах и при избыточном внесении калия.

- *кальция* – некроз (отмирание) краев листьев, верхушечной почки, корней, листья хлоротичные, искривленные, края их закручиваются кверху, листья неправильной формы, края могут иметь бурую опаленность; дефицит часто при избыточном внесении калия.

- *железа* – равномерный хлороз между жилками, бледно-зеленая, желтая окраска листьев без отмирания тканей; чаще всего возникает при избыточном известковании почвы.

- *бора* – отмирание верхушечных почек, корешков, листьев, опадание завязей, молодые листья мелкие, бледные, сильно деформированные;

- *меди* — задержка роста, отмирание верхушки побега, пробуждение боковых почек. Листья пестрые, бледно-зеленые с коричневыми пятнами, вялые, уродливые.

- *марганца* — хлороз между жилками листа — на верхних листьях между жилками появляются желтовато-зеленые или желтовато-коричневые пятна, жилки остаются зелеными, что придает листу пестрый вид. В дальнейшем участки хлорозных тканей отмирают, при этом появляются пятна различной формы и окраски. Признаки недостатка появляются прежде всего на молодых листьях и в первую очередь у основания листьев, а не на кончиках, как при недостатке калия.

- *серы* — замедление роста стеблей в толщину, в бледно-зеленой окраске листьев без отмирания тканей. Признаки недостатка серы

сходны с признаками недостатка азота, появляются они прежде всего на молодых растениях.

- *цинка* — мелкие, сморщенные, узкие листья, крапчатые из-за межжилкового хлороза, побеги тонкие, короткие, характерна «розеточность», ветки с короткими междоузлиями.

- *молибдена* — структурный компонент фермента (фермент), который снижает нитраты к аммиаку. Без этого синтез белков блокирован и рост растения прекращается. Семена не могут формироваться полностью, и недостаток азота может произойти если растениям недостаточно молибдена. Молибден – единственный из микроэлементов, поглощение которого увеличивается с увеличением pH.

Данные вносят в таблицу.

Установление диагноза заболевания по признакам голодания растений

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

**Материалы и оборудование:** атласы и книги с иллюстрациями признаков голодания, препаровальная игла, лупа, бинокляр. Растения: гербарные листы больных растений, спиртовые препараты органов больных растений.

## **Тема 6. ОБМЕН И ТРАНСПОРТ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В РАСТЕНИЯХ**

*Обмен веществ* – процесс, поставляющий все необходимые для жизнедеятельности организма соединения, также энергию. Он включает огромное количество взаимосвязанных физических и хи-

мических реакций, целенаправленно протекающих при участии ферментов.

Первым источником органических веществ растения являются первичные стабильные продукты фотосинтеза – фруктоза, глюкоза, сахароза, первичный крахмал. Все другие органические соединения синтезируются из промежуточных веществ, образующихся при окислении углеводов в процессе дыхания с использованием энергии АТФ и элементов минерального питания. Реакции биологического синтеза протекают при участии специфических ферментов, характер действия которых зависит от внешних факторов (температуры, кислотности, аэрации, солевого состава среды), а также от связи фермента с цитоплазматическими структурами.

Содержание в растениях белков, аминокислот, углеводов, липидов, витаминов, эфирных масел и других соединений в значительной определяет качество урожая, а, следовательно, и питательную ценность растительных продуктов.

Углеводы – главная составная часть растений. В большинстве с/х растений количество углеводов 80-90% сухой массы. В отдельных органах и тканях растений в преобладающем количестве содержатся разные углеводы: в плодах и овощах – моносахариды и сахара; в семенах злаков и бобовых культур, а также в клубнях – картофеля – крахмал; в древесине и соломе – целлюлоза, гемицеллюлозы, пентозаны. Различные вкусовые качества плодов, ягод, овощей связаны прежде всего с преобладанием в них разных по составу растворимых углеводов.

Растительные жиры, или масла, - главный запасной продукт семян большинства растений. Жиры в семенах могут накапливаться в значительном количестве – до 30-40% общей массы и до 50-60% массы ядра. Всего в состав растительных жиров может входить до 50 различных жирных кислот, чем и обусловлены их разнообразные свойства.

Белки составляют материальную основу растительного организма. Они служат важнейшей составной частью цитоплазмы, в том числе мембран, клеточных органелл, многих биологически активных веществ. Свойства белков зависят от набора и порядка чередования аминокислот в их молекулах. Белки играют важную роль в пищевом рационе человека и животных и поэтому проблема

повышения их содержания в растительных продуктах является исключительно актуальной.

Наряду с веществами основного обмена в растительных клетках накапливаются локально синтезируемые и медленно перемещаемые вещества вторичного происхождения – алкалоиды, гликозиды, терпеноиды и др.

### **Работа 1. Запасные вещества растительной клетки**

Вещества живого содержимого растительной клетки - протопласта и продукты его жизнедеятельности очень разнообразны. Условно их объединяют в две группы:

1) *конституционные*, входящие в состав живой материи, и участвующие в обмене веществ (белки, нуклеиновые кислоты, липиды, углеводы и др.);

2) *эргастические включения* (греч. *эргон* - работа) - представляющие собой компоненты протопласта, играющие вспомогательную роль в его жизни и являющиеся либо источниками материи и энергии при росте и работе живой клетки, либо отбросными продуктами ее метаболизма. Одни из них - запасные вещества, т.е. временно исключенные из процесса обмена веществ (белки, липиды, углеводы: крахмал, инулин сахар и др.). Другие вещества - конечные продукты, например, соли кальция.

*Крахмал* (после целлюлозы) является самым распространенным в растительном мире углеводом. Крахмал образуется в хлоропластах во время фотосинтеза (*ассимиляционный или первичный крахмал*). Позже он разрушается и синтезируется в амилопластах как *запасной или вторичный крахмал*.

Крахмальные зерна имеют разную форму (рис. 1) и образуют слоистость вокруг одной точки, называемой *образовательным центром*. Возникновение слоистости приписывают чередованию двух углеводов *амилазы* (линейные молекулы) и *амилопектина* (разветвленные молекулы). Расположение слоев может быть *концентрическим* (например, у злаков и бобовых) (рис. 21, Б; 24) и *эксцентрическим* (например, у картофеля) (рис. 21, А). В последнем случае, точка, вокруг которой откладываются слои, находится не в центре зерна, а сдвинута вбок.

Амилопласт может содержать одно (простое зерно) или несколько крахмальных зерен (полусложное и сложное). Если в лейкопласте имеется одна точка, вокруг которой откладываются слои, то образуется *простое зерно*, если две и более, то образуется *сложное зерно*, состоящее как бы из нескольких простых. *Полусложное зерно* образуется в том случае, если крахмал сначала откладывается вокруг нескольких точек, а затем после соприкосновения простых зерен вокруг них возникают общие слои. Форма крахмальных зерен своеобразна у каждого вида.

В клубнях георгина, земляной груши, корнях одуванчика и других растений семейства сложноцветных клеточный сок содержит близкий к крахмалу углевод *инулин*, отличающийся от крахмала растворимостью в воде. При действии спирта инулин кристаллизуется, образует так называемые *сферокристаллы*.

*Белки* - это основные органические вещества, определяющие строение и свойства живой материи. В определенные фазы развития белки могут откладываться в запас. Запасные белки наиболее часто откладываются в виде зерен округлой или овальной формы, называемых *алеироновыми*. Это простые белки - протеины. Они откладываются в вакуолях или лейкопластах (алеиронопласты). Запасными белками очень богаты семена бобовых и злаковых растений. Большое количество белков находится в клетках, расположенных под семенной кожурой, в так называемом *алеироновом слое*.

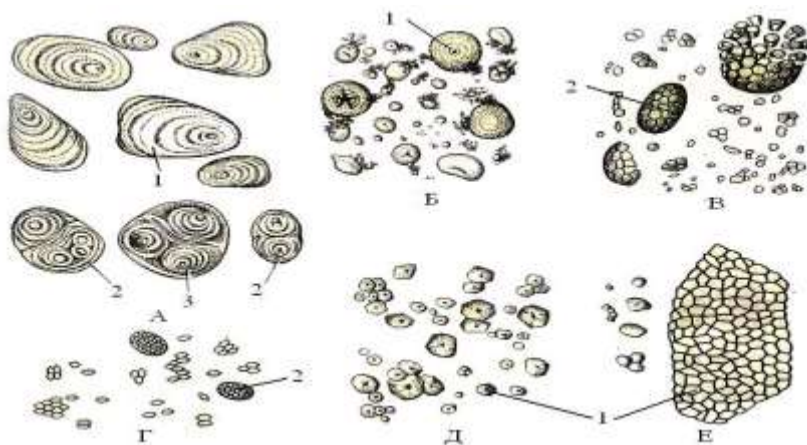
*Липиды* включают большую группу соединений биологического происхождения. Липиды являются структурными компонентами клетки (входят в состав мембран, образуют липидные капли в цитоплазме) или эргастическими веществами. Запасные масла обычно откладываются в лейкопластах, называемых *олеопластами*.

### **Ход работы:**

**Задание 1.** Приготовить и рассмотреть временные микропрепараты крахмальных зерен клубня картофеля (*Solanum tuberosum*), зерновок пшеницы (*Triticum aestivum*), овса (*Avena sativa*), кукурузы (*Zea mays*), риса (*Oryza sativa*), плода гречихи (*Fagopyrum sagittatum*). Произвести реакцию на крахмал раствором

йода в йодистом калии. Сравнить формы крахмальных зерен у разных видов растений, сделать их рисунки.

Последовательность работы. Отрезать маленький кусочек клубня картофеля и сделать им мазок на предметном стекле в капле воды. При этом из разрушенных клеток в воду переходят крахмальные зерна, в результате чего она мутнеет. Каплю накрыть покровным стеклом и рассмотреть при малом и большом увеличении. При большом увеличении хорошо видны овальные и яйцевидные зерна крахмала с эксцентрической слоистостью (рис. 21, А). При рассмотрении слоистости следует прикрыть диафрагму конденсора и слегка вращать микрометрический винт. Найти и зарисовать простые, сложные и полусложные крахмальные зерна.



**Рис. 1. Крахмальные зерна различных видов растений:**

А - картофель (*Solanum tuberosum*); Б - пшеница (*Triticum aestivum*); В - овес (*Avena sativa*); Г - рис (*Oryza sativa*); Д - кукуруза (*Zea mays*); Е - гречиха (*Fagopyrum sagittatum*).

1 - простое крахмальное зерно, 2 - сложное, 3 - полусложное.

У риса овальные сложные крахмальные зерна из простых, очень мелких граненых зернышек (рис. 1, Г).

Для приготовления препаратов крахмальных зерен зерновок пшеницы, овса, кукурузы, риса и плода гречихи, разрезать и извлекать кончиком иглы небольшие кусочки эндосперма каждого ви-

да, перенести их в капли воды на предметные стекла, разрыхлить иглой, накрыть покровными стеклами и рассмотреть препараты под микроскопом.

У пшеницы крахмальные зерна обычно двух типов: мелкие округлые и линзовидные. На более крупных зернах едва видна концентрическая слоистость (рис. 1, Б).

Крахмальные зерна овса мелкие, овальные, сложные. При их развитии в лейкопластах возникают многочисленные образовательные центры, которые в сформированном зерне, как правило, не видны. Их слоистость не заметна. Сложное зерно легко распадается на отдельные составляющие его зернышки. Поэтому на микропрепарате можно наблюдать мелкие угловатые и многочисленные простые зерна (рис. 1, В).

Крахмальные зерна кукурузы простые, многогранные, со сглаженными углами. В центре их видна трещина, по форме напоминающая штрих, галочку или звездочку (рис. 1, Д).

Крахмальные зерна гречихи очень мелкие, неправильной формы. В поле зрения микроскопа они обнаруживаются либо по одиночке, либо в скоплениях, соответствующих очертанию клетки. Слоистость крахмальных зерен не заметна. Иногда в центре зерна видна трещина (рис. 1, Е).

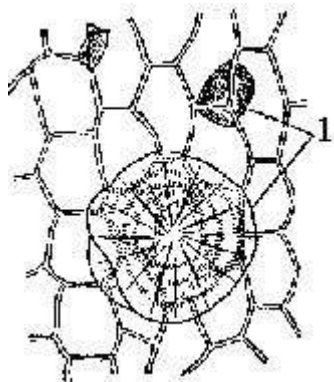
Реактивом на крахмал служит слабый раствор йода в йодистом калии. Заменить воду реактивом и наблюдать постепенное окрашивание крахмальных зерен от слабо-синего цвета до темно-синего и черного.

Зарисовать зерна всех рассмотренных видов, сопоставляя их размеры и формы.

**Задание 2.** Рассмотреть сферокристаллы полисахарида инулина на срезе клубня топинамбура (*Helianthus tuberosus*) (рис. 2).

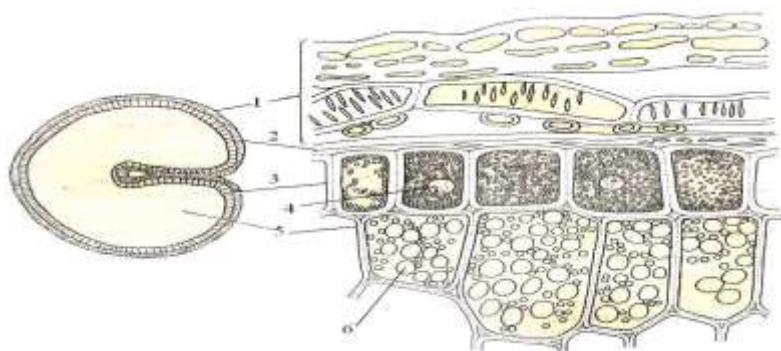
Последовательность работы. Приготовить временный микропрепарат поперечного среза клубня топинамбура в капле глицерина (в воде сферокристаллы быстро растворяются). Сферокристаллы состоят из множества игловидных кристаллов. Они быстро разрастаются, захватывая несколько клеток. Стенки этих клеток видны в сферокристалле при пользовании микрометренным винтом.





**Рис. 2. Сферокристаллы (1) в клетках клубня топинамбура (*Helianthus tuberosus*).**

**Задание 3.** Рассмотреть алейроновый слой, алейроновые и крахмальные зерна на постоянном микропрепарате поперечного среза зерновки пшеницы (*Triticum aestivum*). Зарисовать фрагмент среза и сделать обозначения (рис. 3).



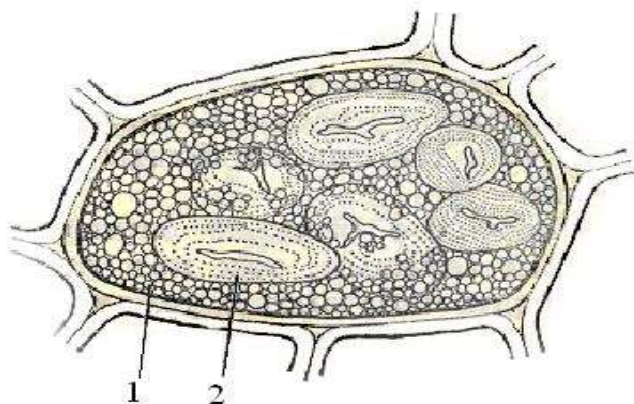
**Рис. 3. Запасные вещества в зерновке пшеницы (*Triticum aestivum*) на поперечном срезе:**

1 - околоплодник, 2 - кожура семени, 3 - алейроновый слой, 4 - ядро, 5 - клетки эндосперма с крахмальными зёрнами, 6 - крахмальные зёрна.

Последовательность работы. При малом увеличении найти тонкий участок среза, на котором видна золотистая полоска из клеток алейронового слоя, расположенного сразу же под кожурой семени и покровами зерновки. В результате реакции с йодом белок

приобретает желтую окраску. При большом увеличении рассмотреть плотно сомкнутые клетки алейронового слоя, имеющие кубическую форму, заполненные мелкими алейроновыми зернами. Иногда в центре клетки заметно ядро. В глубже лежащих клетках эндосперма зерновки видны крахмальные зерна. Зарисовать несколько клеток алейронового слоя, кожуру семени, сросшуюся с околоплодником, и клетки эндосперма с крахмальными зернами и сделать обозначения.

**Задание 4.** Приготовить временный микропрепарат поперечного среза семени фасоли (*Phaseolus vulgaris*), поместить его в каплю йода в йодистом калии с добавлением капли глицерина. Рассмотреть при большом увеличении содержимое клеток - алейроновые и крахмальные зерна. Сделать рисунок (рис. 4).



**Рис. 4. Запасные вещества в клетке семени фасоли (*Phaseolus vulgaris*):**

1 - простые алейроновые зерна, 2 - крахмальное зерно.

Последовательность работы. Найти при малом увеличении тонкий участок среза. При большом увеличении, видно, что семядоля фасоли состоит из крупных паренхимных клеток с небольшими межклетниками. Внутри клеток хорошо заметны большие овальные синие крахмальные зерна и между ними - золотисто-желтые простые алейроновые зерна. Отметить, что крахмальные зерна фасоли заметно отличаются от зерен картофеля очертаниями,

слоями равномерной толщины (концентрической слоистостью) и наличием трещин на месте образовательного центра. Объяснить окрашивание крахмальных и алейроновых зерен раствором йода в йодистом калии. При большом увеличении зарисовать клетку семени фасоли, отметить крахмальные и алейроновые зерна.

**Материалы и оборудование:** кусочки клубня топинамбура (*Helianthus tuberosus*) (выдержанные в 96% -ном спирте в течение 7-10 дней), картофеля (*Solanum tuberosum*); предварительно намоченные зерновки пшеницы (*Triticum aestivum*), овса (*Avena sativa*), кукурузы (*Zea mays*), риса (*Oryza sativa*), плоды гречихи (*Fagopyrum sagittatum*), семена фасоли (*Phaseolus vulgaris*), постоянный микропрепарат "Поперечный срез зерновки пшеницы (*Triticum aestivum*)"; глицерин, раствор йода в йодистом калии,

## **Работа 2. Свойства моносахаридов, дисахаридов и полисахаридов**

**Углеводы** — обширный класс природных органических соединений, которые в зависимости от способности к гидролизу подразделяются на простые и сложные углеводы. *Простыми углеводами* — моносахаридами или монозами — называют углеводы, которые не способны гидролизоваться с образованием более простых соединений. К простым сахарам относят, например, глюкозу, фруктозу, ксилозу, арабинозу и т. д. Большинство этих веществ имеет состав, соответствующий общей формуле  $C_nH_{2n}O_n$ . *Сложные углеводы* — это углеводы, способные гидролизоваться с образованием простых углеводов. Их делят на две группы: 1) низкомолекулярные (сахароподобные, или олигосахариды) полисахариды и 2) высокомолекулярные (несахароподобные) полисахариды.

**Ход работы:** 1. Для определения моносахаридов глюкозы и фруктозы в растительных объектах пользуются реактивом Феллинга, приготовленным по рецептам Пастера.

Очищенный и вымытый корнеплод моркови натирают на терке. Полученную мезгу (3-5г) переносят в термостойкую колбу, прибавляют 3-5 мл дистиллированной воды, кипятят и фильтруют через бумажный фильтр.

В пробирку наливают 1-2 мл полученного фильтрата, прибавляют равный объем жидкости Феллинга и нагревают до кипения.

В том случае, если в исследуемых объектах содержатся глюкоза и фруктоза – восстанавливающие сахара, то образуется красный осадок закиси меди. Количество осадка оценивают по 3-балльной системе. Если осадка в пробирке много, а надосадочная жидкость неокрашенная, то активность фермента наивысшая – 3 балла. Если надосадочная жидкость слегка голубоватого цвета, значит глюкозы недостаточно для полного связывания реактива Феллинга. Если осадка вообще не и жидкость в пробирке интенсивно голубого цвета, активность фермента равна нулю.

2. Подобную реакцию на открытие восстанавливающих сахаров делают с сахарозой. Для этого исследуют 1-2 мл раствора сахарозы. Объясняют причину отрицательной реакции по Феллингу.

**Материалы и оборудование:** корнеплод моркови, реактив Феллинга, колба термостойкая, спиртовка, вода дистиллированная.

### **Работа 3. Липиды и их свойства**

*Липиды* — сборная (разнородная) группа биологических соединений, растворимых в органических растворителях и нерастворимых в воде.

**Ход работы:** В пробирку наливают 0.5-1.0 мл подсолнечного масла, прибавляют 5-10 мл воды и, закрыв пробирку, встряхивают в течение 3 минут. Масло разбивается на мелкие капли, образуя эмульсию. Эмульсия нестойкая, и очень скоро все капельки масла собираются вместе в один слой на поверхности воды, что указывает на нерастворимость жира в воде.

В щелочной среде эмульсия будет более тонкой и стойкой. Берут в пробирку каплю масла, прибавляют 2 мл 20%-ного спиртового раствора едкого кали и осторожно нагревают до кипения. Липиды при этом распадаются, присоединяя три молекулы воды, на глицерин и жирные кислоты. Последние немедленно вступают в реакцию со щелочью, образуя соли жирных кислот, называемые мылами, то есть происходит реакция омыления. Если прибавить воды, то раствор делается прозрачным.

Специфической реакцией на липиды является окрашивание их в оранжево-красный цвет от спиртового раствора красителя Судан-III.

На предметное стекло в каплю спиртового раствора красителя Судан-III помещают срезы изучаемых семян, накрывают покровным стеклом и легонько надавливают на него. Под микроскопом наблюдают появление вблизи срезов капелек масла, окрасившихся в оранжево-красный цвет. Зарисовывают полученные результаты.

**Материалы и оборудование:** подсолнечное масло, вода, пробирки (15мл), КОН 20% спиртовой раствор, спиртовка, Судан-III, семена подсолнечника и тыквы.

#### **Работа 4. Определение активности липазы**

*Липаза* — фермент, катализирующий гидролиз триглицеридов. Липазы, присутствующие в семенах масличных растений, проявляют активность при различных значениях pH. Поэтому иногда употребляют названия нейтральной, кислой и щелочной липазы. Наиболее активны в семенах масличных кислая и щелочная липазы.

**Ход работы:** Берут три равные навески семян льна по 2.0 г каждая (при использовании семян подсолнечника их предварительно очищают от околоплодника). Тщательно перетирают каждую порцию семян в фарфоровой ступке. Растертые семена переносят в три колбы.

В первую колбу прибавляют 10 мл дистиллированной воды.

Во вторую колбу – 10 мл воды и 2 мл 0.1 н раствора уксусной кислоты.

В третью колбу – 10 мл воды. Затем содержимое этой колбы кипятят в течение 3 минут и охлаждают. Прибавляют, как и предыдущем варианте, 2 мл 0.1 н раствора уксусной кислоты.

Все три колбы убирают в темный шкаф на 18-24 часа.

На следующий день колбы вынимают и выравнивают в них условия среды. Для активации липазы требуется определенная pH среды, в данном случае меньше 7 (речь идет о кислой липазе). С этой целью в первую колбу прибавляют 2.0 мл и раствора уксусной кислоты. Затем приступают к титрованию. Титрование производят 0.1 н раствором NaOH в присутствии 1-2 капель фенолфталеина.

Для того, чтобы предотвратить процесс гидролитической диссоциации мыла, которое образуется при титровании, прибавляют по 25.0 мл спирта в каждую колбу.

По количеству 0.1 н раствора NaOH, израсходованного на титрование, судят об активности липазы. В первой колбе, не содержащей кислоты, фермент липаза находится в неактивном состоянии. В третьей колбе, содержимое которой было подвергнуто кипячению, ферментативный процесс не идет, так как фермент разрушен.

**Материалы и оборудование:** семена льна, клещевины или подсолнечника, 1%-ный раствор уксусной кислоты, 0.1 н раствор NaOH, фарфоровая ступка с пестиком, конические колбы, воронки пипетки, спирт, фенолфталеин, весы, фильтровальная бумага, вода дистиллированная.

### **Работа 5. Растительные белки и их свойства**

*Белки* – это высокомолекулярные азотсодержащие органические вещества, молекулы которых построены из остатков аминокислот, связанных друг с другом в полипептидные цепи. Белки представляют собой полимерные молекулы, в состав которых входит 20 различных АК.

**Ход работы:** 1. При действии концентрированных растворов нейтральных солей происходит высаливание белка. К 2-3 мл раствора белка прибавляют кристаллическую нейтральную соль. Когда концентрация раствора достигнет примерно 50%, начнет выпадать в осадок, вследствие чего раствор помутнеет. После прибавления воды наблюдается исчезновение мути, так как глобулин снова переходит в раствор – реакция высаливания обратима.

2. При действии на белок высокой температуры (кипячение) или крепкой кислоты ( $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) происходит денатурация белка. В пробирку налить 2-3 мл раствора белка и нагреть до кипения. Образуется осадок, не растворяющийся в солевом растворе, что свидетельствует о необратимости произошедших изменений. Аналогичный эффект можно получить при действии на раствор белка крепкой азотной кислотой.

3. Биуретовая реакция. Под действием водного раствора медного купороса и едкой щелочи наблюдается окрашивание белка в

фиолетовый цвет. К 2-3 мл раствора белка прибавляют 1 мл 20%-ного раствора NaOH и взбалтывают смесь. Затем добавляют 1-2 капли 5%-ного раствора медного купороса и наблюдают за изменением окраски.

4. Ксантопротеиновая реакция. При нагревании смеси белка с азотной кислотой до кипения образуется желтый сгусток. После прибавления аммиака желтая окраска белка усиливается и переходит в оранжевую.

**Материалы и оборудование:** раствор белка ( из гороховой муки), концентрированная  $\text{HNO}_3$ , аммиак, кристаллическая соль NaCl, 20%-ный раствор NaOH, 5%-ный раствор  $\text{CuSO}_4$ , спиртовка, пробирки, пипетки.

### **Работа 6. Превращение крахмала в прорастающих семенах**

*Процесс превращения веществ у крахмалистых семян следующий:* вода, поступающая в щиток зародыша, активизирует ферменты, которые через особые всасывающие клетки эпителиальной ткани проникают в соприкасающиеся с ней слои эндосперма. Под воздействием ферментов амилазы происходит распад клеток полисахаридов (в основном крахмала, но в этот процесс могут вовлекаться и другие полисахариды, при этом крахмальные зерна как бы подвергаются коррозии) на более подвижные соединения – декстрины и мальтозу. Как только появилась мальтоза, тотчас же активизируется фермент мальтаза, которая расщепляет мальтозу до глюкозы, не только служащей энергетическим материалом, но и идущей на построение клеток тела. Глюкоза в особом транзитном соединении проникает через щиток к зародышу, где и происходит синтез новых веществ. Одновременно накапливается сахароза, которая образуется благодаря действию фосфоролитических и других ферментов. В этом процессе гидролиза сложных углеводов принимают участие и ферменты эндосперма, которые активизируются водой и поступившими ферментами из зародыша.

**Ход работы:** На желатиновую пластинку в чашки Петри очень осторожно помещаем проросшие семена пшеницы. Семена необходимо предварительно разрезать пополам, промыть в воде или смочить срезы водой, а затем положить срезанной поверхно-



стью вниз по 10-12 семян в чашку Петри. Через 20-30 минут семена осторожно снять пинцетом так, чтобы не повредить желатиновой пленки и облить всю пластинку раствором йода в йодистом калии. Для этого берут 10 мл дистиллированной воды, прибавляют в нее 10 капель раствора йода в йодистом калии, а затем переносят в чашку Петри. Неокрашенными, светлыми пятнами будут те места, где находились срезы семян. Это свидетельствует о том, что под действием диастазы крахмал превратился в сахар.

**Материалы и оборудование:** проросшие семена пшеницы, ячменя или гороха, картофельная мука, желатин, слабый раствор йода в йодистом калии, чашки Петри, пинцеты.

### **Работа 7. Обнаружение алкалоидов в растениях**

*Алкалоиды* – азотсодержащие ароматические соединения щелочного характера, обладающие сильными физиологическими действиями. Некоторые алкалоиды в малых дозах широко применяются в медицине для лечения различных заболеваний человека и животных или используются в качестве тонизирующих (чай, кофе, какао) и наркотических веществ. Многие алкалоиды обладают высокой токсичностью, поэтому, содержащие их растения нельзя использовать на корм (люпин, вика, полынь и другие). Некоторые алкалоиды используются как средства борьбы с вредителями сельскохозяйственных растений.

Алкалоидоносные растения составляют около 10 % всей мировой флоры. Алкалоиды могут содержаться или во всем растении, или в одном или нескольких органах. Обычно алкалоиды синтезируются в листьях и подземных органах, а затем перемещаются в семена.

Содержатся алкалоиды в растениях в незначительных количествах (0,001...0,01 %), некоторые растения (хинное дерево, табак, барбарис) содержат больше алкалоидов (до 10 %).

Алкалоиды в зависимости от строения азотсодержащих циклов классифицируют на группы, различающиеся между собой по химическим и биологическим свойствам: производные пиридина, пирролидина, хинолина и изохинолина, индола, пурина и других.

Предполагается, что алкалоиды являются побочными продуктами обмена веществ и являются запасными веществами или вы-



полняют защитную роль. Возможно, они играют роль гормонов, вызывающих усиление обменных процессов на определенных фазах развития растений.

Для алкалоидов характерна цветная реакция с йодом в йодистом калии – образование красновато-бурой окраски.

**Цель работы.** Установить наличие алкалоидов в семенах разных видов люпина или других растений.

**Ход работы.**

1. Семена различных видов люпина (по 5...10 шт) разделить на семядоли.

2. На поверхность каждой семядоли нанести 1...2 капли йода в йодистом калии.

3. Определить интенсивность красновато-бурой окраски на поверхности семядолей: слабая (+), средняя (++), сильная (+++), отсутствует (-).

4. Полученные результаты записывают в табл. и делают выводы о наличии алкалоидов в семенах люпина.

### **Наличие алкалоидов в семенах люпина**

Виды люпина	Интенсивность окраски	Наличие алкалоидов

**Материалы и оборудование:** семена многолетнего, желтого, ушколистного и белого люпина, лезвие, раствор йода в KI.

### **Работа 8. Обнаружение дубильных веществ в растениях**

К *дубильным* относят вещества способные дубить невыделанную шкуру, превращая её в кожу. Дубильные вещества при взаимодействии с каллогеном – белком кожных покровов, образуют устойчивую поперечно-связанную структуру, определяющую высокую прочность и устойчивость кожи к различным факторам.

Дубильные вещества подразделяются на гидролизуемые и конденсированные. К гидролизуемым относятся галловые и элла-

говые дубильные вещества. Галловыми дубильными веществами являются галлотаннин или китайский танин, который образуется в листьях и листовых галлах различных видов растения сумаха. Основным компонентом галлотанина является пентагаллоилглюкоза. Эллаговые дубильные вещества (состоят из эллаговой кислоты) содержатся в корке граната, кожуре незрелых грецких орехов, миробилинах, древесине эвкалипта.

Конденсированные дубильные вещества являются полимерами катехинов или антоцианов или сополимерами этих двух типов соединений. Они содержатся в коре ивы, сосны, ели, лиственницы, древесине некоторых видов акации, каштана и дуба.

Термин «дубильные вещества» используется также в пищевой промышленности и в технической биохимии, для обозначения более низкомолекулярных соединений, обладающих вяжущим вкусом, но не способных к истинному дублению. К пищевым дубильным веществам относят димеры катехинов, образующиеся при изготовлении черного чая (имеют слабо вяжущий вкус и характерную золотисто-красную окраску).

Физиологическое значение дубильных веществ связано с их участием в окислительно-восстановительных реакциях.

Характерной реакцией на дубильные вещества является почернение их при обработке слабым раствором хлорного железа.

**Цель работы.** Определить наличие дубильных веществ в листьях дуба, комнатных растений, коре ивы, в черном чае.

**Ход работы.**

1. Измельченную массу коры ивы, листьев дуба, комнатных растений или чая поместить в пробирку, залить водой и кипятить в течение 5 минут.

2. В чистую пробирку налить 1 мл полученной вытяжки и прибавить 2 капли хлорного железа.

Появление черной окраски раствора свидетельствует о наличии дубильных веществ.

Результаты наблюдений отмечают в табл. и делают выводы.

**Наличие дубильных веществ у различных растений**

Объект	Реакция на хлорное железо	Наличие дубильных веществ

**Материалы и оборудование:** чай, листья дуба и комнатных растений, кора ивы и дуба, пробирки, пипетки, фарфоровые чашки, раствор хлорного железа.

### **Тема 7. РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ**

*Рост и развитие растений* - важнейшие физиологические процессы, определяющие структуру, величину и качество урожая. Поэтому агроном должен хорошо знать их, уметь исследовать и контролировать. Рост – необратимое увеличение размеров и массы тела, связанное с новообразованием элементов структуры организма. Рост растения складывается из роста клеток, тканей и органов. Развитие – качественные изменения структуры и функций растения

и его отдельных частей – органов, тканей и клеток, возникающие в процессе онтогенеза.

Все процессы роста и развития растений осуществляются через деление, растяжение и дифференциацию клеток. Рост в длину и ветвление побегов и корней происходят благодаря деятельности апикальных меристем верхушек побегов и кончиков корней; рост в толщину – в результате деятельности камбия. В период роста клетки меристем и камбия непрерывно делятся: внешняя часть клеток остается в меристемном состоянии, а все остальные растут и дифференцируются в ткани и органы. Следовательно, каждая клетка в процессе роста проходит три фазы: меристемную, и эмбриональную; роста, или растяжения; дифференциации.

Общий закон роста – его неравномерность, или периодичность, обусловленная внутренними причинами. Вначале рост органа или всего растения происходит медленно, затем быстрее и потом снова замедляется. Нарастание общей массы органа или растения графически выражают в виде плавной S-образной кривой, скорость роста, или прирост массы, в виде плавной, более или менее симметричной кривой с одним максимумом.

К важному внутреннему фактору роста и развития растений относят вещества высокой физиологической активности, объединяемые под названием регуляторов роста и развития. Это ауксины, гиббереллины, цитокинины и ингибиторы роста. Поскольку указанные вещества в одних тканях и органах растения и, передвигаясь действуют на другие ткани и органы, их называют фитогормонами. В зависимости от физиологического состояния растения, концентрации и соотношения фитогормонов, последние могут стимулировать или тормозить тот или иной физиологический процесс, ускорять или замедлять его.

Синтезировано много искусственных регуляторов роста растений, которые широко применяют: для подавления развития сорняков; при укоренении черенков; для нарушения или вызывания состояния покоя растений; опадения листьев; ускорения опадения излишних завязей и предупреждения предуборочного опадения плодов, увеличения их размеров; получения партенокарпических (бессемянных) плодов.

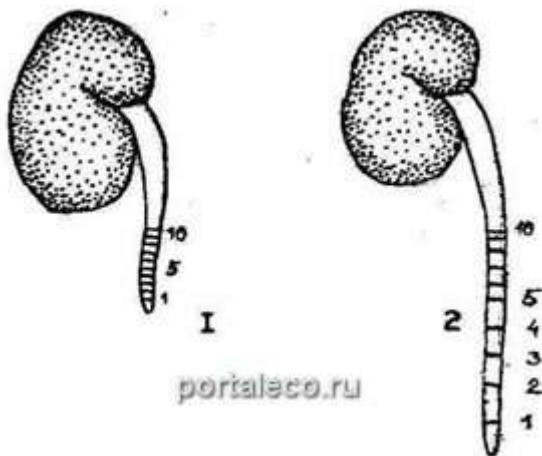
На рост и развитие растений влияют внешние факторы: интенсивность и спектральный состав света, продолжительность дня и ночи, температура и влажность воздуха и почвы, органические и минеральные удобрения.

### **Работа 1. Определение зон роста в органах растений**

Для изучения ростовых процессов широко применяют метод нанесения меток на поверхность органа через одинаковые расстояния. По мере роста органа расстояния между метками увеличиваются и могут быть использованы для характеристики интенсивности роста разных участков растущей зоны органа.

Метки наносят тушью (растирают сухую тушь в 5%-м растворе декстрина или альбумина) или маркировочной жидкостью, полученной из сажи или активированного угля и парафинового масла (сажу или активированный уголь растирают с парафиновым маслом до образования густой жидкости). Для нанесения меток используют щетинку, привязанную к палочке, тонко заточенную деревянную палочку, смоченную тушью или маркировочной жидкостью.

**Ход работы.** *Определение зоны роста корня.* Семена гороха или фасоли, кукурузы проращивают во влажных опилках, в которых стеклянной палочкой делают углубления для свободного строго вертикального роста корня. Затем на небольшие длиной 1.5-2см совершенно прямые предварительно осторожно обсушенные фильтровальной бумагой корни (три – четыре корня) наносят метками 1 мм. Метки должны быть тонкими и хорошо заметными. Далее проростки помещают в благоприятные для роста условия: влажные камеры, темные комнаты при 20-25<sup>0</sup>С. Через сутки измеряют расстояния между метками (при увеличении ширины самих меток измеряют от их середины) и вычисляют средний суточный прирост различных участков корня (рис.1.).



**Рис.1. Проросток гороха с нанесенными метками**

Результаты выражают графически, откладывая по оси абсцисс номера отрезков, а по оси ординат – приросты. Делают выводы о характере роста корня. Результаты опыта записывают по форме (таб.)

**Форма записи результатов**

Номер проростка	Зона прироста, мм									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

1  
2  
3  
4

*Продолжение*

Номер проростка	Зона прироста, мм										Примечание
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	

1  
2  
3  
4

*Определение зоны роста стебля.* Метод основан на учете приростов различных участков стебля за сутки. На четырех проростках подсолнечника высотой 2-3 см тушью наносят (начиная от верхушки проростка) по десять меток на расстоянии 2мм друг от друга. Проростки помещают в темное место при 20-25<sup>0</sup>С. Через сутки измеряют прирост различных участков стебля. Результаты

опыта записывают в тетрадь и выражают графически, откладывая на оси абсцисс порядковый номер метки, а по оси ординат – пророст. Делают выводы о характере роста стебля. Результаты опыта учитывают по форме, указанной при определении зоны роста корня.

**Материалы и оборудование.** Проростки гороха с корнями длиной 1.5-2см, проростки подсолнечника высотой 2-3см, выращенные в темноте, тушь или маркировочная жидкость, древесные опилки. Препаровальные иглы или тонко заточенные деревянные палочки, миллиметровая бумага, влажные камеры.

## **Работа 2. Наблюдение ярусной изменчивости морфологических признаков**

Морфологические признаки метамерных органов (листьев, междоузлий стебля) закономерно изменяются в зависимости от яруса побега. Это хорошо прослеживается при сравнении размеров и формы листьев или длины междоузлий разных ярусов. От нижних к верхним ярусам побега размеры листьев сначала увеличиваются, а затем, достигнув определенного максимума, начинают уменьшаться. У некоторых видов растений закономерно изменяется и рассеченность листовых пластинок (хлопчатник, томат и др.) При графическом выражении ярусной изменчивости получается одновершинная кривая.

**Ход работы.** У растений пшеницы или ячменя, находящихся в фазе колошения (или цветения) и, следовательно, сформировавших литья в качестве показателя метамерной изменчивости. Для этого у листа каждого яруса измеряют ширину основания пластинки и ее длину. Затем рассчитывают площадь листьев по формуле:

$$S = 2/3 k \times x,$$

где  $S$  – площадь листа  $\text{см}^2$ ,  $k$  – ширина основания листа,  $x$  – длина пластинки.

Вычерчивают графики, на которых отражают изменение площади листьев в зависимости от яруса побега(рис.1.). По оси абсцисс откладывают номер яруса, считая снизу, а по оси ординат – площадь листьев.



**Рис. 1. График изменения площади листьев в зависимости от яруса побега**

**Материалы и оборудование.** Растения пшеницы или ячменя в фазе колошения или цветения, линейки.

### **Работа 3. Определение силы роста семян методом морфофизиологической оценки проростков**

Наиболее полно истинные посевные качества семян характеризуются силой роста, т.е. способностью проростков к быстрому, дружному прорастанию и интенсивному росту. На силу роста большое влияние оказывают крупность семян, условия их формирования и хранения. Для посева используют семена, силы роста которых не менее 80%.

Цель работы – изучить зависимость силы роста от массы зерна, метеорологических условий года получения урожая, длительности хранения семян, а также исследовать влияние кумарина как одного из аллелопатических агентов на прорастание семян зерновых культур. Силу роста определяют проращиванием семян в рулонах и выражают в процентах сильных проростков к общему числу семян в пробе.

**Ход работы.** Для каждого варианта берут отдельную полоску полиэтиленовой пленки размером 60х 15 см, которую используют в качестве ложа для семян. Во всю длину проводят линию каранда-



шом на расстоянии 5см от верхнего края. На эту линию укладывают 50 семян зародышем вниз на расстоянии 1см одного от другого. Накрывают семена по всей длине ложа увлажненной полоской фильтровальной бумаги шириной 5см, свертывают в рулон, связывают шпагатом, снабжают этикеткой и ставят вертикально в сосуд, на дно которого налита вода. При изучении влияния кумарина на силу роста семян контрольные семена ставят на проращивание в воду, опытные – в раствор кумарина концентрацией 50 мг/л.



**Рис.1. Проросшие семена пшеницы:**

*А) с использованием кумарина; Б) без использования кумарина*

Проращивают семена в темноте в течение пяти дней при температуре 20<sup>0</sup>С. Затем разворачивают рулон, оценивают проростки по пятибалльной шкале, определяют сырую массу надземной части и корней для всех 50 проростков вместе. Качество проростков оценивают по следующей шкале:

*Сильные проростки*

*Балл*

Длина ростка превышает 5см, лист вышел из coleoptilya или равен его длине, число зародышевых корешков – пять и более

**5**

Длина ростка не менее 4см, лист в coleoptile, превышает 3/4 его длины, число зародышевых корешков – не менее четырех	4
Длина ростка не менее 2.5см, лист в coleoptile более 1/2 его длины, число зародышевых корешков – не менее трех	3

#### *Слабые проростки*

Длина ростка менее 2.5 см, лист менее 1/2 длины coleoptile, число зародышевых корешков – два и более	2
--	---

Росток по длине менее двух длин зерновки, число зародышевых корешков – два и более	1
--	---

Количество ненормально проросших семян

Количество непроросших (набухших, загнивших, твердых)

Результаты наблюдений записывают по форме (таб.). Делают выводы о влиянии условий выращивания, длительности хранения семян и действии химических регуляторов на силу роста.

### **Морфофизиологическая оценка проростков**

Вариант	Оценка в баллах					Сумма баллов	Сила роста, %	Сырая масса, г		Отношение массы надземной части к массе корней
	5	4	3	2	1			надземной части	корней	

**Материалы и оборудование.** Технические весы, кристаллизаторы, полоски полиэтиленовой пленки и фильтровальной бумаги, шпагат, семена пшеницы и ржи разных лет урожая (крупная и мелкая фракции семян), кумарин, метеорологические данные последних трех лет.

#### **Работа 4. Зависимость прорастания семян и роста растений от ростовых веществ эндосперма (по У.Руге)**

**Ход работы.** Для опыта используют очищенные от пленок зерна овса, ячменя и других злаков. Отбирают 100 зерен, по 25 в каждом варианте. Острым скальпелем отрезают у семян первого варианта 1/3 эндосперма, у семян второго варианта – 2/3 эндоспер-

ма и у семян третьего варианта – весь эндосперм. Семена четвертого варианта оставляют целыми (контроль). Все семена одновременно намачивают в водопроводной воде.



Варианты 1 2 3 4 (контроль)

**Рис. 1. Семена пшеницы с удаленными эндоспермами и целое**

Необходимо вести наблюдения за началом прорастания семян и их дальнейшим ростом в темноте.

Прорастание семян наступит тем быстрее, чем большая часть эндосперма была отрезана, но дальнейший рост проростков сильно тормозится.

**Материалы и оборудование.** Семена, очищенные от пленок, зерна ячменя и других злаков, скальпель, чашки Петри, химические стаканы.

### **Работа 5. Влияние на рост растений азрации**

Кислород почвы имеет большое значение для прорастания семян. У некоторых видов погребенные в почве семена долго сохраняют всхожесть, пребывая в условиях высокой концентрации  $CO_2$ , недостатка кислорода, влажности и света, но, будучи вынесены на поверхность, успешно прорастают.

**Ход работы.** Необходимость кислорода для роста может быть выявлена в опыте по проращиванию семян в условиях различной азрации. Для опыта берут банки (желательно узкие). В банки насыпают до разного уровня влажный песок, на поверхность его

помещают семена, всхожесть которых проверена. Песок необходимо увлажнить до 80% от полной влагоемкости в общей масса. Банки закрывают каучуковыми или корковыми пробками (последние парафинировать). Объем воздуха в них в зависимости от количества песка будет различным (рис.11). Вести наблюдение за прорастанием семян.



**Материалы и оборудование.** Стекланные банки, семена, песок, каучуковые или корковые пробки.

### **Работа 6. Изучение фототропизма растений**

Растения при недостаточном освещении всегда растут в сторону света. Это явление носит название фототропизма, в данном случае — положительного.

Корни растений находятся в земле, свет для их роста не нужен, поэтому у большинства растений корни фототропически нейтральны. Но у ряда растений корни способны проявлять при освещении отчетливую отрицательную реакцию, изгибаясь от источника света.

Во влажных опилках вырастите проростки исследуемого растения таким образом, чтобы корешок был прямым. Можно также вырастить растение в пробирке. В кусочке пробки или пенопласта сделайте отверстие и пропустите в него корешок растения.

Пробку с укрепленным проростком поместите в стакан с водой и перенесите в темное место на сутки. За это время под действием силы земного тяготения корень вырастет отвесно вниз, а стебель вертикально вверх.

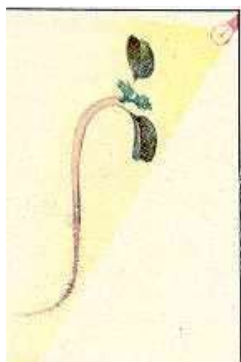
Измените условия освещения. Поставьте стакан с проростком в фототропическую камеру или накройте черным колпаком с расположенным сбоку отверстием для света. Уже через несколько часов можно заметить изменения в ориентации органов: стебелек начинает изгибаться в сторону света, а корень — в противоположную (рис.1).

Проведите хронометраж опыта. Вскоре становится ясно, что в стебле затененная сторона растет быстрее, чем освещаемая, что приводит к изгибу в сторону источника света.

Наблюдая за развитием изгиба в корне, отметьте, что в нем быстрее происходит рост клеток освещаемой стороны. Торможение роста затененной стороны вызывает изгиб от света.

Противоположная реакция стебля и корня на одно и то же воздействие указывает на различие физиологических свойств клеток этих органов.

И в корне, и в стебле действие света воспринимается верхушкой органа, а изгиб происходит ниже, в той части, где клетки проходят фазу растяжения.



**Рис. 1. Фототропизм стебля и корня горчицы.**

Установлено, что при неравномерном освещении стебля в нем происходит перераспределение гормона ауксина: до 75 % его перемещается на затененную сторону. Это приводит к усилению растяжения клеток и удлинению затененной стороны.

В корне большую роль в торможении роста затененной стороны играет, вероятно, абсцизовая кислота, которая синтезируется в корневом чехлике и накапливается в большом количестве на затененной стороне.

**Материалы и оборудование:** семена растений семейства крестоцветных (горчицы, сарептской, редиса посевного), невысо-

кий стакан, кусочек пробки или пенопласта, черный колпак с небольшим отверстием для света.

## **Тема 8. ПРИСПОСОБЛЕНИЕ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ**

Устойчивость растений к неблагоприятным условиям среды с точки зрения агрономической науки оценивается по тому, насколько продуктивность растений под влиянием этих условий по сравнению с продуктивностью их на оптимальном фоне. Оценка устойчивости растений к экстремальным факторам (холоду, морозу, засухе, жаре, засоленности) важна для селекционной и агрономической практики.

Наиболее надежные методы оценки устойчивости растений к экстремальным факторам – прямые полевые и вегетационные методы. Однако большая трудоемкость и продолжительность этих методов вынуждают исследователей применять разнообразные ускоренные лабораторные и лабораторно-полевые методы диагностики устойчивости растений.

**Зимостойкость и холодостойкость.** На территории нашей страны наиболее губительны для растений низкие температуры воздуха и почвы. Низкие отрицательные температуры повреждают зимующие растения, низкие положительные температуры оказывают неблагоприятное воздействие на ход физиологических процессов и формирование урожая теплолюбивых растений. В естественных условиях устойчивость зимующих растений складывается на морозостойкости, устойчивости к выпреванию, вымоканию, действию ледяной корки и зимней засухи (у древесных растений и к солнечным ожогам).

Используют несколько способов диагностики состояния зимующих растений. Для озимых – это метод отращивания монолитов; ускоренный, водный метод; определение повреждения по окрашиванию тканей красителями; по состоянию конуса нарастания.

**Засухоустойчивость.** Проблема засухоустойчивости растений актуальна для многих регионов нашей страны с аридным климатом. Засухоустойчивы те растения, которые способны в процессе онтогенеза приспосабливаться к действию засухи и осуществлять в этих условиях рост, развитие и воспроизведение.

Физиологическая засухоустойчивость складывается из способностей растений переносить обезвоживание и действие высоких температур. Для диагностики засухоустойчивости предпочтительнее использовать прямые методы, непосредственно связанные с засухоустойчивостью. К ним относят: определение засухоустойчивости в засушниках; эксикаторный метод определения способности растений выносить обезвоживание; определение водоудерживающей способности; метод коагуляции белков; определение гидрофильности коллоидов цитоплазмы, содержания свободной и связанной воды, эластичности и вязкости протоплазмы; метод крахмальной пробы и т.д.

**Солеустойчивость.** Значительное распространение засоленных почв на территории нашей страны и существенное снижение продуктивности с/х культур в этих условиях вызывает необходимость оценки степени солеустойчивости растений. Последнее имеет важное значение для селекции, интродукции и технологии возделывания.

Критерием солеустойчивости растений служит степень снижения продуктивности при засолении по сравнению с продуктивностью на нормальном фоне. Определяют солеустойчивость прямыми, а также менее трудоемкими косвенными методами. На засоленных почвах обычно снижается всхожесть семян, поэтому оценку солеустойчивости выполняют по показателям прорастания семян (энергия прорастания, процент всхожести, скорость прорастания). Из косвенных лабораторных методов наиболее известны: плазматический; определение скорости раскрытия устьиц в раство-

рах солей; степени и скорости «выцветания» хлорофилла, количество альбуминов, проницаемости протоплазмы и т.д.

### **Работа 1. Определение засухоустойчивости растений проращиванием семян на растворах сахарозы**

Способность растений на первых этапах развития использовать влагу в условиях недостаточного водоснабжения служит одним из важных биологических и хозяйственно полезных признаков сорта. Определяя количество проросших семян на растворах с высоким осмотическим давлением, иммитирующем условия физиологической сухости, представляется возможным определить на ранних этапах онтогенеза относительную засухоустойчивость видов и сортов.

**Ход работы.** 50 штук семян протравливают в растворе формалина в течение 3 минут и затем помещают в стерильные чашки Петри на фильтровальную бумагу и проращивают в растворе сахарозы (10 мл на чашку) при температуре +20<sup>0</sup>С в течение 7 суток. Высокий процент проросших в сахарозе коррелирует с высокой степенью засухоустойчивости растений при выращивании в полевых условиях. Взятые сорта должны быть одинаковыми по скорости.

**Материалы и оборудование:** семена различных по засухоустойчивости сортов пшеницы, чашки Петри, фильтровальная бумага, раствор сахарозы с осмотическим давлением 16 атм., формалин (1мл на 300мл воды).

### **Работа 2. Определение степени засухоустойчивости растений по состоянию листового аппарата (по Кумакову)**

**Ход работы.** Для определения степени засухоустойчивости различных растений можно использовать два метода:

1) Определяется площадь или длина листьев растений пшеницы разного яруса. Так как при первом появлении засухи наблюдается торможение ростовых процессов, то обычно у сортов незасухоустойчивых размеры листьев верхнего яруса резко сокращаются.

Отношение площади или длины последнего верхнего листа к площади или длине предпоследнего листа является надежным показателем степени засухоустойчивости растений. Измерения сле-



дует проводить 1 50-100 растений и брать среднее арифметическое из полученных данных.

2) Продолжительность жизни листьев одноименных ярусов не одинаковая у засухоустойчивых и незасухоустойчивых растений. Это связано главным образом с деятельностью корневой системы. В полевых условиях проводят наблюдения за скоростью отмирания нижних листьев в период засухи. Раннее отмирание нижних листьев при неблагоприятных условиях водного режима свидетельствует о слабой засухоустойчивости растений. Этот показатель хорошо коррелирует с урожайными данными. Для получения достоверных данных используют не менее 100 растений каждого варианта или сорта.

**Материалы и оборудование:** различные по засухоустойчивости сорта пшеницы в фазе колошения, линейка.

### **Работа 3. Определение водоудерживающей способности растений**

*Водоудерживающая способность* растений является хорошим показателем водообмена растений и устойчивости их к неблагоприятным факторам внешней среды. Известно, что независимо от повышения или снижения температуры и количества воды в почвенном растворе или атмосфере, у растения всегда снижаются многие физиологические процессы в результате обезвоживания. Чем выше водоудерживающая способность растений, тем растение устойчивее к неблагоприятным условиям выращивания. Растения считаются устойчивыми, если за первые 30 мин после среза они теряют воду не более 4-5% от своей массы.

**Ход работы.** Каждого исследуемого участка отбирают по 5 растений, отчленивают у них корневую систему так, чтобы не повредить стебель, очищают растения от старых сухих листьев. Затем надземную массу 5 растений сначала контрольного, а затем опытного вариантов взвешивают на электрических весах. После этого растения аккуратно раскладывают на столе так, чтобы они не касались друг друга и не мешали испарению воды листьями. Растения следует раскладывать только в тени. Через 30 мин на тех же весах растения повторно взвешивают. Затем взвешивание повторяют через каждые 30 мин в течение 2 ч. Определяют количество потерян-

ной растениями воды за каждые 30 мин по разнице между предыдущей и последующей массой. Результаты записывают в таб.

Пересчитывают количество потерянной воды в процентах от общей испаряющей массы (первоначальное взвешивание) и по полученным результатам строят диаграмму, характеризующую динамику водоотдачи у растений.

По количеству потерянной воды за первые 30 мин судят об устойчивости растений к данным условиям среды.

### Определение водоудерживающей способности растений

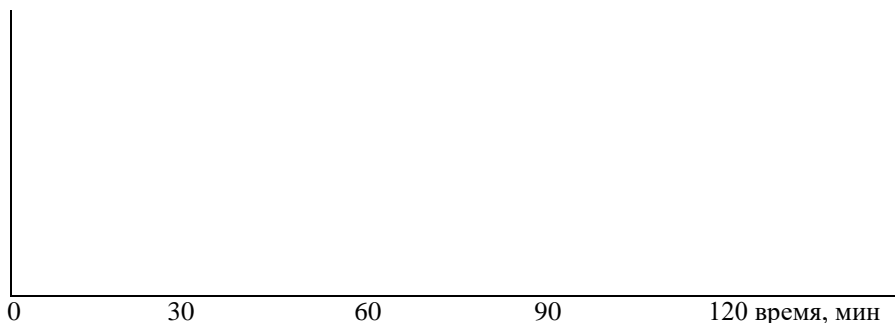
Вариант	Высота растений, шт	Масса растений , г					Потеряно воды растениями за каждые 30 мин							
							г				% от исходной массы			
		Исходная	Через 30 мин	Через 1 ч	Через 1 ч 30 мин	Через 2 ч	М <sub>1</sub>	М <sub>2</sub>	М <sub>3</sub>	М <sub>4</sub>	1	2	3	4

Процент потерянной воды определяют по формуле:

$$ПВ = \frac{M \times 100}{\text{Исходная масса}} \%$$

### Динамика водоотдачи у растений

H<sub>2</sub>O,  
%



**Материалы и оборудование:** образцы сельскохозяйственных растений, электрические весы.

#### **Работа 4. Определение состояния озимых культур ускоренным методом**

Состояние озимых культур в весенне-зимний период можно определить путем наблюдения приростов меристемной ткани у обрезанных узлов кущения.

**Ход работы.** Пробы для анализа из 30-50 растений отбирают по диагонали участка. После оттаивания растения отмывают от почвы и обрезают листья и стебли на расстоянии 1-1.5 см от узла кущения. Корневую систему удаляют полностью (рис.). Готовый материал помещают в чашки Петри, на дно которых кладут хорошо смоченный водой слой ваты или марли. Чашки Петри закрывают крышками. Пробы выдерживают 12-16 ч при 24-26<sup>0</sup>С.

Анализ проб выполняют по отросшей части узлов кущения, прирост которых к этому времени составляет 3-15 мм. Растения, узлы кущения которых дают интенсивный прирост (около 10 мм и более), считают хорошо сохранившимися. В дальнейшем, при нормальных условиях, такие растения могут обеспечить урожай. Слабый прирост (3-5мм) указывает на то, что растения сильно повреждены и продуктивность их будет низкой.

Результаты записывают по следующей форме:

Вариант	Прирост, мм	Отношение числа отросших растений к общему их числу, %	Выводы о состоянии посевов

**Материалы и оборудование:** Ножницы, чашки Петри, марля или вата, полиэтиленовая пленка, фильтровальная бумага.

### **Работа 5. Выявление защитного действия сахаров на протоплазму**

При действии отрицательных температур на растительные ткани в межклетниках образуется лед, который, оттягивая воду из клеток, обезвоживает протоплазму. При определении 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.

**Ход работы.** Из очищенной красной свеклы вырезают три одинаковые кусочка длиной 1.5-2 см, шириной и толщиной 0.5-0.7 см, тщательно промывают их водой и помещают по одному в 3 пробирки.

В первую пробирку наливают 5 мл дистиллированной воды, во вторую – 5мл 0.5 М раствора сахарозы, в третью 5 мл 1М раствора сахарозы. Пробирки помещают в охлаждающую смесь (3 части снега или льда + 1 часть поваренной соли), имеющую температуру около  $-21^{\circ}\text{C}$ . Через 20 минут, когда жидкость в пробирках замерзнет, их вынимают из охлаждающей смеси и опускают в стакан с водой. После оттаивания отмечают окраску жидкости в каж-

дой пробирке, зарисовывают и делают вывод о значении сахарозы как защитного вещества при замерзании растений.

**Материалы и оборудование:** красная свекла, пробирки, чашка для охладительной смеси, бюретки, стакан, нож или лезвие, снег или лед, поваренная соль, растворы сахарозы 0.5М и 1М, термометр до  $-25^{\circ}\text{C}$ .

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Валетов, В.В. Физиология растений: методические указания к лабораторным занятиям по теме «Минеральное питание растений» / В.В.Валетов. – Мозырь: УО МГПУ, 2005. – 32 с.
2. Практикум по физиологии растений/Н. Н. Третьяков, Т. В. Карнаухова, Л. А. Паничкин и др.—3-е изд., перераб\*. и доп. — М.: Агропромиздат, 1990.— 271 с.
3. Физиология растений и биологическая химия: Методические указания и задания к лабораторно-практическим и семинарским занятиям/ Всесоюзн. с.-х. ин-т заочн. образования; Сост. М.К.Каюмов, Л.А. Барильская. М., 1989. 46 с.

## **ОГЛАВЛЕНИЕ**

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	3
<b>Тема 1. ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ</b>	4
Работа 1. Наблюдение плазмолиза и деплазмолиза	4
Работа 2. Определение осмотического давления клеточ- ного сока методом плазмолиза	5
Работа 3. Определение жизнеспособности семян по окрашиванию цитоплазмы	8
Работа 4. Проницаемость живой и мертвой протоплазмы для клеточного сока	8
Работа 5. Определение сосущей силы растительной тка- ни методом полосок	9
Работа 6. Определение сосущей силы ткани методом струек (по Шардакову)	11
<b>Тема 2. ФОТОСИНТЕЗ</b>	13

Работа 1. Определение химических свойств пигментов листа	13
Работа 2. Определение содержания пигментов в листьях методом бумажной хроматографии	16
Работа 3. Определение интенсивности фотосинтеза по поглощению $\text{CO}_2$ в токе воздуха	17
Работа 4. Обнаружение фотосинтеза методом крахмальной пробы	20
Работа 5. Определение фотосинтеза по изменению содержания углерода в листьях растений по (Ф.З.Бородулиной)	21
Работа 6. Наблюдение флуоресценции хлорофилла	
<b>Тема 3. ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ</b>	25
Работа 1. Определение интенсивности дыхания прорастающих семян по Годлевскому	26
Работа 2. Определение интенсивности дыхания семян в закрытом сосуде при различных температурах	27
Работа 3. Определение интенсивности дыхания прорастающих семян в токе воздуха	29
Работа 4. Определение интенсивности дыхания сухих и проросших семян	31
Работа 5. Определение дыхательного коэффициента прорастающих семян	33
Работа 6. Обнаружение дегидрогеназы в растениях	34
Работа 7. Обнаружение каталазы в растительных объектах	35
<b>Тема 4. ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ</b>	37
Работа 1. Формы воды в растениях	38
Работа 2. Сравнение транспирации верхней и нижней сторон листа хлоркобальтовым методом	40
Работа 3. Изучение интенсивности транспирации у сре-	41

занных листьев при помощи торсионных весов	
Работа 4. Определение интенсивности транспирации и относительной транспирации с помощью технических весов	42
Работа 5. Скорость передвижения воды по растению	43
Работа 6. Наблюдение за движением устьиц	44
<b>Тема 5. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ</b>	47
Работа 1. Влияние отдельных элементов питательной смеси на рост растений	48
Работа 2. Антагонизм ионов	50
Работа 3. Физиологически кислые и щелочные соли	51
Работа 4. Определение содержания нитратов в растении и различных его органах	51
Работа 5. Микрохимический анализ золы	52
Работа 6. Диагностика заболеваний растений при голодании по элементам минерального питания	
<b>Тема 6. ОБМЕН И ТРАНСПОРТ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В РАСТЕНИЯХ</b>	56
Работа 1. Запасные вещества растительной клетки	57
Работа 1. Запасные вещества растительной клетки	63
Работа 3. Липиды и их свойства	64
Работа 4. Определение активности липазы	65
Работа 5. Растительные белки и их свойства	66
Работа 6. Превращение крахмала в прорастающих семенах	67
Работа 7. Обнаружение алкалоидов в растениях	68
Работа 8. Обнаружение дубильных веществ в растениях	70
<b>Тема 7. РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ</b>	72
Работа 1. Определение зон роста в органах растений	73
Работа 2. Наблюдение ярусной изменчивости морфологических признаков	75



Работа 3. Определение силы роста семян методом морфобиологической оценки проростков	76
Работа 4. Зависимость прорастания семян и роста растений от ростовых веществ эндосперма (по У.Руге)	79
Работа 5. Влияние на рост растений аэрации	79
<b>Тема 8. ПРИСПОСОБЛЕНИЕ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ</b>	81
Работа 1. Определение засухоустойчивости растений проращиванием семян на растворах сахарозы	82
Работа 2. Определение степени засухоустойчивости растений по состоянию листового аппарата (по Кумакову)	83
Работа 3. Определение водоудерживающей способности растений	84
Работа 4. Определение состояния озимых культур ускоренным методом	86
Работа 5. Выявление защитного действия сахаров на протоплазму	86
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ</b>	88