

О.В. Чернышенко, С.Д. Писарева, Д.Е. Румянцев

# ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ



*К лабораторным работам  
для студентов специальности  
250201 Лесное хозяйство*

Государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ЛЕСА»

О. В. Чернышенко, С. Д. Писарева, Д. Е. Румянцев

## **ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ**

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом  
университета в качестве учебно-методического пособия  
к лабораторным работам для студентов специальности  
250201 Лесное хозяйство

2-е издание



Москва  
Издательство Московского государственного университета леса  
2007

УДК 581.1  
Ч45

*Разработано в соответствии с Государственным образовательным стандартом ВПО 2000 г. на основе примерной программы дисциплины «Физиология растений»*

Рецензенты: профессор В. Н. Трофимов, кафедра экологии и защиты леса;  
доцент П. Г. Мельник, кафедра лесоводства и подсочки леса

Работа подготовлена на кафедре ботаники и физиологии растений

**Чернышенко, О. В.**

Ч45 Физиология растений : учеб.-методич. пособие / О. В. Чернышенко, С. Д. Писарева, Д. Е. Румянцев. – 2-е изд. – М. : ГОУ ВПО МГУЛ, 2007. – 48 с.

Пособие включает рабочую программу дисциплины «Физиология растений», примерные вопросы для самоконтроля и лабораторные работы по всем разделам курса с теоретическими пояснениями.

УДК 581.1

© О. В. Чернышенко, С. Д. Писарева,  
Д. Е. Румянцев, 2007  
© ГОУ ВПО МГУЛ, 2007

## Предисловие

Курс физиологии растений является мировоззренческим фундаментом при освоении любой специализированной лесоводственной дисциплины, его внимательное изучение является залогом успеха в будущей практической деятельности специалистов лесного хозяйства.

Учебный план включает 34 часа лекционного курса, 51 час лабораторных занятий и 3 дня летней учебной практики.

Основная цель данного пособия – закрепить знания студентов по теоретическим основам курса “Физиология растений”. В лабораторных занятиях студенты знакомятся с методами исследований в области физиологии растений, которые могут быть использованы лесоводами в практической деятельности, например, при оценке физиологического состояния дерева и древостоя.

Каждая работа выполняется двумя студентами, получающими один из вариантов. Конечные результаты по всем вариантам обобщаются в общей таблице и обсуждаются всеми студентами группы. Таким образом каждая лабораторная работа приобретает коллективный характер и представляет собой небольшое законченное научное исследование, рассчитанное на 2 академических часа.

Лабораторные работы по курсу оформляются в отдельной тетради каждым студентом. Для каждого лабораторного занятия указывается дата проведения опыта, название темы, по которой выполняется работа, название проводимой работы с указанием методов ее выполнения и объектов исследования, порядок обработки полученных результатов. В конце каждой лабораторной работы пишут выводы, в которых излагаются конечные результаты, записываются уравнения реакций, объясняются причины различия в интенсивности физиологических процессов.

## Литература

### Основная

Веретенников А.В. Физиология растений с основами биохимии. – Воронеж, 2002. – 256 с.

Генкель П.А. Физиология растений. - М., - Просвещение, 1975.- 335 с.

Гэлстон А., Девис П., Сэттер Р. Жизнь зеленого растения. - М.: Мир, 1983. - 549 с.

Лебедев С.И. Физиология растений. - М.: Агропромиздат, 1988.- 543 с.

Полевой В.В. Физиология растений. - М.: Высшая школа, 1989. - 464 с.

Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений // Под редакцией Третьякова Н.Н. – М.: Колос, 1998. – 639 с.

Медведев С.С. Физиология растений. – СПб.: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2004. -336с.

### *Дополнительная*

Горышина Т.К. Фотосинтетический аппарат растений и условия среды. - Л.: Изд-во ЛГУ, 1989.- 203 с.

Горышина Т.К. Экология растений. – М.: Высшая школа, 1979 – 368 с.

Загрязнение воздуха и жизнь растений. - Л.: Гидрометеиздат, 1988.- 534 с.

Кине Ж.-М. Физиология цветения. 3 т. - М.: Мир, 1991.- 352 с.

Косулина Л.Г., Луценко Э.К., Аксенова В.А. Физиология устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды // Под редакцией Мокроносова А.Г. – Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 1993.– 235 с.

Крамер П., Козловский Т. Физиология древесных растений, - М.: Лесная промышленность, 1983. - 464 с.

Лархер В. Экология растений. - М.: Мир, 1978.- 384 с.

Лир Х., Польстер Г., Фидлер Г.-И. Физиология древесных растений. - М.: Лесная промышленность, 1974.- 424 с.

Николаевский В.С. Биологические основы газоустойчивости растений. – Новосибирск. Наука, 1979. – 278 с.

Магомедов И. Фотосинтез и органические кислоты. - Л.: Наука, 1988.- 150 с.

Смит Х. Лес и атмосфера. - М.: Прогресс, 1985.- 428 с.

## **РАБОЧАЯ ПРОГРАММА**

### **Введение**

Предмет, задачи и методы физиологии растений. Основные этапы развития физиологии растений. Связь физиологии растений с другими науками. Роль физиологии растений в развитии лесного и лесопаркового хозяйства. Современные проблемы физиологии растений.

### **Физиология растительной клетки**

Растительная клетка как универсальная открытая биологическая система и элементарная структура организма. Морфология клетки. Протоплазма. Основные клеточные структуры (ядро, пластиды, митохондрии, рибосомы, пероксисомы, тонопласт, клеточные оболочки, мембраны, цитоплазма), их

строение, химический состав и функции. Характеристика физиологических функций и процессов в клетке.

Биохимический состав клетки (белки, липиды, углеводы и нуклеиновые кислоты). Обмен веществ как основное свойство живого. Ферменты, их классификация и роль в жизни клетки и растения.

Растительная клетка как осмотическая система. Полупроницаемость мембран. Плазмолиз и деплазмолиз. Осмотическое давление клеточного сока. Тургор, сосущая сила клетки. Зависимость величины осмотического давления от условий местообитания растений. Поступление воды в клетку. Компартиментация.

### Водный режим растения

Физико-химические свойства воды и ее значение в жизни растений и в биосфере. Водный баланс дерева и его связь с водным режимом почвы. Корневая система как орган, обеспечивающий растение водой. Корневое давление и методы его определения. Гуттация и "плач" растений. Пасока, ее состав. Сезонная и суточная динамика корневого давления у древесных растений. Представление о физиологической сухости почв.

Транспирация, ее значение в жизни растений. Механизм движения устьиц и влияние их на транспирацию. Продуктивность транспирации, транспирационный коэффициент. Методы определения транспирации растений. Роль внешних и внутренних факторов в транспирации растений. Суточный ход транспирации. Интенсивность и показатели транспирации у разных экологических групп растений. Эвапотранспирация и водообмен леса. Антитранспиранты.

Передвижение воды по растению. Движущие силы восходящего тока воды по ксилеме. Теория сцепления. Скорость водного тока в стволах деревьев. Сезонные и суточные изменения содержания воды в древесном растении. Взаимосвязь водного обмена с физиологическими процессами дерева. Регулирование водного режима растений.

### Фотосинтез

Сущность фотосинтеза и его роль в эволюции живых форм и биосферы Земли. Понятие о авто- и гетеротрофном типе питания. Основные этапы изучения фотосинтеза. Типы углеродного питания растений, эволюция фотосинтеза: гетеротрофный и автотрофный (фоторедукция, фотосинтез, хемосинтез).

Лист как орган фотосинтеза. Пигментная система высших растений. Строение и функции хлоропластов. Химическая природа и физические

свойства хлорофилла. Биосинтез хлорофилла в листьях древесных растений.

Механизм фотосинтеза. Световая и темновая фазы фотосинтеза.

Энергетика фотосинтеза. Механизм участия хлорофилла в фотосинтезе. Фотосинтетическое фосфорилирование (циклическое и нециклическое) и его роль. Хемиосмотическая теория П.Митчела. КПД фотосинтеза. Квантовый выход фотосинтеза. Влияние спектра света на энергетику фотосинтеза.

Химизм фотосинтеза:  $C_3$ ,  $C_4$  и САМ - пути фиксации  $CO_2$ . Первичные, промежуточные и конечные продукты фотосинтеза, акцепторы  $CO_2$ , ферменты. Фотодыхание и его значение в метаболизме и энергетике растений.

Факторы, влияющие на фотосинтез древесных растений. Зависимость фотосинтеза от содержания хлорофилла в листе, от анатомического строения, скорости оттока ассимилятов, площади листьев, сопротивления диффузии  $CO_2$  на пути в хлоропласт. Суточный и сезонный ход фотосинтеза древесных растений.

Светолюбие и теневыносливость растений. Особенности фотосинтеза светолюбивых и теневыносливых растений. Световой компенсационный пункт, углекислотный компенсационный пункт, ассимиляционное число. Связь фотосинтеза и дыхания с продуктивностью древесных растений. Световой режим в лесу и в кроне дерева. Генетические основы регуляции фотосинтеза.

Фотосинтез и урожай. Фотосинтетическая продуктивность лесного насаждения. Листовой индекс, фотосинтетический потенциал.

### Дыхание растений. Брожение

Физиологическая сущность и значение дыхания в жизни растений. Теория дыхания А.Баха и А.Палладина. Генетическая связь аэробного дыхания и брожения. Спиртовое, молочнокислое, маслянокислое и уксуснокислое брожение. Энергетическая эффективность брожения по сравнению с аэробным дыханием. Эффект Л.Пастера.

Химизм дыхания. Гликолиз. Цикл Кребса. Пентозофосфатный цикл окисления глюкозы. Последовательность использования субстратов в дыхании клетки, дыхательный коэффициент как отражение химизма дыхания. Связь дыхания с процессами роста растений и синтезом органических веществ. Промежуточные продукты дыхания.

Энергетика дыхания. Окислительное фосфорилирование. Электронно-транспортная цепь дыхания. Использование промежуточных продуктов окисления в синтезе углеводов, белков и жиров.

Методы изучения дыхания. Интенсивность дыхания отдельных органов и тканей древесных растений. Зависимость дыхания от внешних и внутренних условий.

## Минеральное питание

История изучения минерального питания растений. Органогенные и зольные элементы. Макро-, микро- и ультрамикроэлементы. Доступная для растений форма основных элементов питания.

Корневая система как орган поглощения и передвижения веществ. Синтетическая деятельность корней. Роль корневой системы в жизнедеятельности растений. Роль почвенных микроорганизмов в минеральном питании растений.

Антагонизм и синергизм ионов. Физико-химическая сущность антагонизма ионов. Избирательность поглощения. Физиологически кислые, щелочные и нейтральные соли. Уравновешенные питательные растворы.

Усвоение растениями азота. Формы азотистых соединений, доступных для растений. Превращение азотистых веществ в растениях. Роль микроорганизмов в превращении азотистых веществ: аммонификация, нитрификация, денитрификация. Общая схема круговорота азота в природе.

Роль отдельных макроэлементов (фосфора, серы, калия, кальция, магния, железа), их физиологическое значение. Распределение макроэлементов в растении, их суточная и сезонная динамика, связанная с внутренними и внешними факторами. Значение и распределение отдельных микроэлементов (марганец, медь, цинк, молибден, бор и др.) в растении.

Способность проникновения минеральных веществ в клетку. Сезонная и суточная динамика поглощения минеральных элементов питания древесными растениями. Вторичное использование (реутилизация) элементов питания древесными растениями в насаждениях. Аллелопатия. Почвоутомление. Основы применения удобрений в лесу. Диагностика недостаточности и избыточности содержания элементов питания в почве. Методы анализа химического состава растений.

## Превращение органических веществ в растениях

Биохимический состав древесных растений. Первичный и вторичный синтез органических веществ. Конституционные, запасные, энергетические, транспортные и защитные вещества. Живица хвойных. Фитонциды. Фенольные соединения, терпеноиды, алкалоиды, гликозиды. Физиологическая роль и практическое значение соединений вторичного обмена.

Механизм регуляции превращения органических веществ в растениях. Превращения веществ при созревании семян и плодов. Особенности метаболизма в прорастающих семенах древесных растений. Годичный цикл превращений запасных веществ в вегетативных органах древесных растений.



## Рост и развитие растений

Понятие о росте и развитии растений. Три фазы роста растительной клетки.

Регуляторы роста и их классификация. Фитогормоны и ингибиторы. Роль ауксинов, гиббереллинов, цитокининов, абсцизинов и этилена в ростовых процессах. Механизмы действия регуляторов роста. Практическое использование регуляторов роста в сельском, лесном и лесопарковом хозяйствах.

Влияние внешних условий на рост. Периодичность роста и состояние покоя древесных растений. Период покоя семян и почек древесных растений, способы его регулирования.

Взаимодействие частей растения, корреляция и полярность. Ростовые движения растений. Тропизмы, настии.

Онтогенез и филогенез. Взаимодействие процессов роста и развития. Основные этапы индивидуального развития растений. Жизненный цикл высших растений. Фенологические фазы. Внутренние и внешние факторы развития растений. Яровизация. Фото- и термопериодизм. Гормональная теория цветения растений М.Х.Чайлахяна. Внутриклеточная, тканевая и организменная регуляция роста и развития растений.

## Устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды

Общие представления об устойчивости растений к неблагоприятным внешним воздействиям. Специфические и неспецифические реакции. Устойчивость растений как результат процесса адаптации.

Холодостойкость и морозоустойчивость древесных растений. Зимостойкость. Различие этих понятий. Механизм повреждения клеток и тканей низкими температурами.

Засухо- и жароустойчивость. Действие на растение высоких температур и водного дефицита. Классификация ксерофитов. Влияние пожаров на древесные растения. Методы диагностики и повышения засухо- и жароустойчивости растений.

Солеустойчивость древесных растений. Типы засоления почв и физиологическое действие разнокачественного засоления на растения. Классификация растений по солеустойчивости.

Древесные растения и анаэробноз. Причины устойчивости растений к затоплению.

Устойчивость древесных растений к техногенному загрязнению. Влияние промышленных газов и пыли на анатомо-морфологическое строение листьев растений и физиолого-биохимические процессы, продуктивность.

Механизм повреждения растения промышленными газами и пылью. Теории устойчивости древесных растений к промышленным газам. Методы оценки и повышения газоустойчивости растений.

Действие ионизирующих излучений на растения. Радиоустойчивость древесных пород.

Устойчивость растений к патогенным микроорганизмам. Физиологические основы иммунитета высших растений. Физиология больного дерева.

Пути повышения общей устойчивости древесных растений к неблагоприятным внешним воздействиям.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Физиология растений как наука. Методы физиологии. Современные проблемы физиологии древесных растений
2. Физиология растительной клетки. Органеллы и их функции
3. Цитоплазма, ее свойства.
4. Биохимический состав клетки: белки и липиды. Строение клеточных мембран
5. Сосущая сила дерева и клетки
6. Природа диффузии и осмоса. Осмотическое давление и методы его определения
7. Поглощение и выделение веществ клеткой
8. Физические и химические свойства воды. Значение воды в жизни
9. Биохимический состав клетки: белки и нуклеиновые кислоты
10. Водный баланс растений и насаждений
11. Поглощение воды корнями растений (пассивное и активное). Гуттация
12. Двигатели водного тока. Теория когезии - адгезии - натяжение
13. Транспирация и ее значение для древесных растений
14. Интенсивность транспирации дерева. Формула Дальтона
15. Методы измерения транспирации древесных растений
16. Суточные колебания транспирации. Антитранспиранты
17. Характеристика различных групп растений по водному режиму
18. Водный режим почвы и его влияние на водный режим растений
19. Мертвый запас воды в почве, водный дефицит
20. Влияние внешних и внутренних условий на фотосинтез
21. Биосферная роль фотосинтеза
22. Понятие об авто-и гетеротрофном питании растений
23. Ферменты и их классификация
24. Регулирование водного режима растений. Физиологические основы орошения

25. Экология дыхания
26. Значение дыхания у древесных растений
27. Биохимический состав древесных растений. Конституционные, запасные и транспортные вещества
28. Защитные вещества древесных растений: живица, фитонциды, витамины
29. Фотодыхание растений
30. С4 - путь фотосинтеза
31. Эндогенная регуляция фотосинтеза по А. Мокроносову
32. Механизм поглощения света пигментами
33. Эффект Пастера
34. С3 - путь фотосинтеза
35. Методы определения фотосинтеза древесных растений
36. Хемиосмотическая теория образования АТФ П.Митчела
37. Циклическое фотофосфорилирование
38. Гликолиз. Генетическая связь между дыханием и брожением
39. Лист как орган фотосинтеза
40. Пигменты растений
41. Фотосинтез и урожай
42. Световые и темновые реакции фотосинтеза. Доказательства их существования
43. Физические и химические свойства хлорофиллов
44. Промежуточные продукты дыхания
45. Цикл Кребса и окислительное фосфорилирование
46. Метаболизм кислот у толстянковых (САМ-метаболизм)
47. Энергетика фотосинтеза: квантовая эффективность и квантовый расход. КПД фотосинтеза
48. Синтез хлорофилла в листьях древесных растений
49. Нециклическое фотофосфорилирование (Z - схема)
50. Ферменты дыхания
51. Теория окисления А. Палладина и А. Баха
52. Субстраты дыхания. Дыхательный коэффициент
53. Пентозофосфатный путь дыхания. Дыхательный коэффициент
54. Эффект Эмерсона и переходы Блинкса
55. Транспорт ассимилятов в древесных растениях
56. Интенсивность дыхания. Дыхание различных частей дерева
57. Гормональная теория цветения М. Чайлахяна
58. Влияние света на развитие древесных растений
59. Регулирование минерального питания и методы диагностики
60. Физиологическая роль бора, цинка и кобальта
61. Фитогормоны: гиббереллины
62. Регуляция развития на организменном уровне

63. Аллелопатия древесных растений
64. Защитные вещества древесных растений: гликозиды, дубильные вещества, алкалоиды
65. Движение растений: тропизмы, настии, таксисы
66. Покой семян древесных растений
67. Поглощение минеральных веществ растением
68. Физиологическая роль азота. Круговорот азота в природе
69. Фитогормоны: ауксины, цитокинины
70. Ингибиторы роста: АБК и этилен
71. Антагонизм, синергизм и уравнивание ионов
72. Фазы роста клетки. Ритмичность роста дерева
73. Термопериодизм древесных растений
74. Физиологическая роль меди, марганца и молибдена
75. Фотопериодизм древесных растений
76. Факторы, регулирующие рост деревьев
77. Физиологическая роль фосфора и серы в растениях
78. Физиологические основы применения удобрений в лесу
79. Физиологическая роль калия, кальция, железа и магния в растении
80. Влияние тяжелых металлов на древесные растения
81. Покой почек древесных растений.
82. Регуляция развития растений на клеточном уровне
83. Регуляция развития растений на тканевом уровне
84. Классификация элементов в растениях. Органогены и зольные элементы

## ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

### Работа 1

#### КЛЕТКА КАК ОСМОТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА. ПЛАЗМОЛИЗ И ДЕПЛАЗМОЛИЗ

Клеточные мембраны, в том числе плазмолемма и тонопласт, обладают свойствами полупроницаемости – способностью пропускать воду, газ и растворенные в воде вещества с разной скоростью. Вода и газ легко проходят через мембраны, в отличие от некоторых растворенных в воде соединений, которые практически не проходят через мембраны.

Помещение клетки в раствор, концентрация которого выше концентрации клеточного сока, вызывает диффузию или отток воды из клетки, что приводит к сокращению объема клеточного сока и увеличению концентра-

ции клеточного сока. Если внешний раствор не приходит в равновесие с клеточным соком, то дальнейшая потеря воды и сокращение объема вакуоли и цитоплазмы приводят к отставанию цитоплазмы от клеточных стенок. Это явление называют плазмолизом. Вещества, вызывающие плазмолиз, получили название плазмолитиков, в качестве которых могут выступать соли одно- и двухвалентных металлов, растворимые в воде органические соединения (сахароза).

Деплазмолиз – возвращение цитоплазмы в исходное состояние в клетке при помещении ее в воду или раствор с меньшей концентрацией, чем внутриклеточная.

**Материалы и оборудование.** 1. Луковица *Allium* сера, в клетках эпидермиса которой содержится антоциан. 2. 1 N раствор  $KNO_3$ . 3. Стеклянные палочки. 4. Препаровальные иглы. 5. Бритвы или скальпели, пинцеты. 6. Микроскопы. 7. Фильтровальная бумага. 8. Предметные и покровные стекла.

**Ход работы.** Приготовить бритвой тонкие срезы окрашенного антоцианом нижнего эпидермиса лука. Положить срез в каплю воды на предметное стекло и, закрыв покровным стеклом, наблюдать в микроскоп живые клетки в состоянии тургора. В клетках эпидермиса отчетливо видны окрашенная вакуоль и клеточные стенки; протопласт, как правило, не заметен. С одной стороны покровного стекла помещают каплю 1 N раствора азотнокислого калия, а с противоположной стороны воду отсасывают фильтровальной бумагой. Наблюдать в микроскоп постепенное отставание протоплазмы от стенок клетки вследствие выхода из клеток воды. Сначала наблюдается отставание цитоплазмы лишь в уголках клеток, а затем и от всей поверхности оболочки клеток, принимая округлую форму. Иногда наблюдаются тонкие нити протоплазмы, соединяющие оболочку клетки с плазмолизированным протопластом. Зарисовать несколько клеток в состоянии плазмолиза различной степени (сильный плазмолиз - содержимое клетки сокращается более чем на  $1/3$  объема; средний - на  $1/3$  и меньше; слабый - отставание протопласта только в уголках клеток).

После этого таким же способом заменить раствор азотнокислого калия водой. Наблюдать прекращение плазмолиза и увеличение объема протопласта до перехода клеток в состояние тургора. Наступает деплазмолиз.

При медленном плазмолизе и деплазмолизе клетки остаются живыми, о чем говорит возможность повторения этих процессов. При высоких концентрациях плазмолитика может произойти разрушение клеточных мембран, гибель клеток и потеря их способности к плазмолизу.

## Работа 2

## НАБЛЮДЕНИЕ ВРЕМЕННОГО ПЛАЗМОЛИЗА

**Материалы и оборудование.** Те же, но вместо  $KNO_3$  8-10%-ный раствор глицерина или мочевины.

**Ход работы.** Приготовить срез окрашенного нижнего эпидермиса лука. Положить срез в каплю воды на предметное стекло, закрыть покровным стеклом и наблюдать состояние клеток в микроскоп. Заменить воду раствором глицерина или мочевины и сразу наблюдать под микроскопом плазмолиз, а через некоторое время – деплазмолиз.

Зарисовать последовательность изменения состояния протоплазмы клеток. Сделать вывод о причинах исчезновения плазмолиза.

## Работа 3

## РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМЫ ПЛАЗМОЛИЗА

**Материалы и оборудование.** Те же. Кроме того: вазелин, спиртовка.

**Ход работы.** Кусочек нижнего эпидермиса лука помещают в каплю раствора азотнокислого калия. Для того чтобы не наступило испарение плазмолитика, препарат заливают по краям покровного стекла разогретым вазелином. Для этого разогревают на спиртовке стеклянную палочку, которой берут вазелин. Препарат рассматривают под микроскопом.

Сначала наблюдают отставание протопласта по краям, чаще в уголках клеток (уголковый плазмолиз), переходящий в вогнутый плазмолиз. Позже, минут через 20, протопласт округляется и переходит в выпуклый плазмолиз. Иногда на одном срезе можно наблюдать одновременно все три вида плазмолиза.

В наступлении различных форм плазмолиза важную роль играет вязкость протоплазмы. У молодых клеток с высокой вязкостью протоплазмы обычно наблюдается медленный переход к выпуклому плазмолизу. У взрослых клеток с более низкой вязкостью протоплазмы выпуклый плазмолиз наступает быстрее.

Зарисовать формы плазмолиза.

## Работа 4

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСМОТИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ  
КЛЕТОЧНОГО СОКА МЕТОДОМ ПЛАЗМОЛИЗА

**Материалы и оборудование.** 1. Лук, листочки элодеи, красная капуста, листья традесканции двухцветной. 2. 1 М, 0,9 М, 0,8 М, 0,7 М, 0,6 М, 0,5 М, 0,4 М, 0,3 М, 0,2 М, 0,1 М растворы сахарозы. 3. Микроскопы. 4. Часовые стекла, препаровальные иглы, пинцеты, бритвы, предметные и покровные стекла.

**Ход работ.** Сделать тонкие срезы окрашенного эпидермиса лука или других растений с окрашенным клеточным соком. Срезы помещают на часовых стеклах в растворы сахарозы концентрации 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 и 1 Моль /литр на 20 мин. После этого срезы помещают в каплю той же концентрации на предметное стекло, закрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. Необходимо определить концентрацию сахарозы, в которой наблюдается начальная стадия плазмолиза.

Изотоническая концентрация сахарозы (то есть имеющая одинаковое осмотическое давление с осмотическим давлением клеточного сока) находится между концентрацией, вызывающей слабый плазмолиз, и концентрацией, которая не вызывает плазмолиз.

По изотонической концентрации вычисляется осмотическое давление клеточного сока двумя способами:

$$1. P = RTCi,$$

где  $P$  - осмотическое давление, А;

$R$  - газовая постоянная;  $R=0,0821$  л А/град М;

$T$  - абсолютная температура, К° ;

$C$  - концентрация раствора, М/л;

$i$  - изотонический коэффициент, характеризующий ионизацию раствора;  $i = 1 + a(n-1)$ , где  $a$  - степень диссоциации;  $n$  - число ионов, на которые диссоциирует молекула. Для неэлектролитов, в том числе и сахарозы,  $i = 1$ .

$$2. P = 22,4 C,$$

где 22,4 - осмотическое давление любого вещества в растворе при концентрации 1 М/л.

Для перевода данных в атмосферах в килопаскали их умножают на 101,3 (1 А= 101,3 кПа).

Результаты опыта записывают в табл. 1.

Таблица 1

Концентрация раствора сахарозы	Степень плазмолиза	Изотоническая концентрация	Осмотическое давление	
			Атм.	КПа
0,5 М	Сильный	0,35	1.	
0,4 М	Слабый			
0,3 М	Нет		2.	
0,2 М	Нет			

## Работа 5

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ И ОСМОТИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СОКА РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Рефрактометрический метод основан на учете показателя преломления света, проходящего через клеточный сок, который зависит от его концентрации. Этот метод с помощью специальных таблиц позволяет быстро и точно определять концентрацию клеточного сока и осмотическое давление и очень удобен в работе. Вместе с тем имеются некоторые ограничения для использования этого метода. Так как клеточный сок содержит не только сахара, но и другие соединения, преломление света которыми не всегда совпадает с преломлением света раствора сахарозы. Поэтому таблица показателей осмотического давления будет наиболее точна для таких растений, как сахарный тростник. Этим методом можно изучать изменение осмотического давления только в пределах вида или сорта растений.

**Материалы и оборудование.** 1. Листья растений. 2. Ручной пресс или ступка с пестиком. 3. Марля, ножницы, пипетка. 4. Рефрактометр РЛ. 5. Фильтровальная бумага.

**Ход работы.** При помощи ручного пресса приготовить сок из 2-3 листьев исследуемых растений, предварительно завернув их в кусочек марли; или измельченные листья растирают в ступке и отжимают сок через марлю.

С помощью зеркала рефрактометра добиваются хорошего освещения призмы. На нижнюю полупризму наносят пипеткой 2 капли клеточного сока и прижимают верхнюю полупризму к нижней. Глядя в окуляр и вращая винт, добиваются большей резкости изображения шкалы концентраций и контрастности светлой и темной части в поле зрения. Движением ручки, перемещая окуляр вниз или вверх, добиваются совмещения линии раздела светлого и темного полей с тремя рисками в окуляре. На шкале по линии



раздела полей снимают показания коэффициента преломления света в относительных числах или процентах. После определения каждого варианта опыта призму протирают сначала влажной, а затем сухой фильтровальной бумагой, чтобы удалить предыдущий раствор. По таблице находят концентрацию клеточного сока и осмотическое давление в атмосферах. Для перевода в килопаскалы найденную величину умножают на 101,3.

Результаты опытов записывают в табл. 2.

Таблица 2

Вариант опыта	Показатель шкалы рефрактометра	Концентрация клеточного сока (гМ)	Осмотическое давление	
			атм	кПа

## Работа 6

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСУЩЕЙ СИЛЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ПОМОЩИ РЕФРАКТОМЕТРА

Метод основан на том, что при помещении кусочков растительной ткани в раствор сахарозы определенной концентрации последняя изменяется (увеличивается или уменьшается) вследствие обмена водой между клетками растения и раствором. При этом изменяется показатель преломления света раствором, который определяется при помощи рефрактометра.

Тот раствор, который не изменил своей концентрации и, следовательно, показателя преломления после пребывания в нем кусочков растительной ткани, следует считать изотоничным сосущей силе ткани растения.

**Материалы и оборудование:** 1. Молярный раствор сахарозы. 2. Листья растений разных пород. 3. Пробирки. 4. Пробочные сверла, пробки. 5. Стекланые палочки. 6. Фильтровальная бумага. 7. Рефрактометр РЛ.

**Ход работы.** Приготовить ряд растворов сахарозы по 10 мл концентрации 1,0; 0,9; 0,8; 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 и 0,1 моль на литр. Растворы готовятся из одномолярного раствора сахарозы разбавлением водой. В десять пробирок налить по 0,5 мл раствора сахарозы перечисленных концентраций в убывающем порядке. В них помещают по 5 высечек из листьев одного вида растений. Высечки листьев должны быть полностью погружены в раствор. Через 40 мин. определяется на рефрактометре концентрация исходного раствора и соответствующего раствора, в котором находились высечки.

Раствор сахарозы в пробирке, где концентрация раствора не изменилась после выдерживания в ней высечек, будет иметь осмотический потенциал, равный сосущей силе тканей растения.

Произвести расчет сосущей силы клеток растения по формуле:

$$S = 22,4 C,$$

где  $S$  - сосущая сила клеток;

$C$  - концентрация раствора в гМ/л.

## Работа 7

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ТРАНСПИРАЦИИ И ПОТЕРИ ВОДНОГО ЗАПАСА У СРЕЗАННЫХ ЛИСТЬЕВ ПРИ ПОМОЩИ ТОРЗИОННЫХ ВЕСОВ

Интенсивность транспирации можно определить весовым методом, используя торзионные весы, позволяющие с большой точностью (до 1 мг) производить взвешивание. Для учета транспирации отрезанных листьев определяют изменение их веса за короткие промежутки времени, 3-5 мин. Это позволяет получить цифры, близкие к естественной транспирации листа на дереве. Наблюдения за транспирацией проводят в течение 10 мин. после срезания. Дальнейшее наблюдение за потерей веса, когда лист начинает завядать, дает представление о скорости потери водного запаса.

**Материалы и оборудование:** 1. Листья растений. 2. Торзионные весы. 3. Сушильный шкаф. 4. Секундомер. 5. Бюксы.

**Ход работы.** Установить весы на столе строго горизонтально по уровню при помощи двух винтов на подставке весов. Срезав листья растений, быстро взвесить их на торзионных весах (вес  $P_1$ ). Через 5 мин. повторить взвешивание (вес  $P_2$ ) и еще через 5 мин. (вес  $P_3$ ). Разности отсчетов  $P_1 - P_2$  и  $P_2 - P_3$  дают представление о количестве испаренной воды в процессе транспирации. В дальнейшем при отсутствии возмещения испаренной воды лист начинает завядать, что приводит к снижению интенсивности транспирации. Продолжая взвешивать уже через 15-минутные интервалы, можно установить скорости потери водного запаса листьев.

Определить листовую поверхность, используя миллиметровую бумагу или весовым методом, и рассчитать интенсивность транспирации и скорость потери водного запаса в мг воды на  $1 \text{ дм}^2$  в час. Определить сухой вес листьев и хвои  $P_0$ . Для этого положить листья в тарированные бюксы и поместить в сушильный шкаф при температуре  $+105^\circ\text{C}$  на 6 часов, после чего их взвесить на торзионных весах.

Определить содержание воды в листьях:

$$E_1 = P_1 - P_0 / P_1 \cdot 100; E_2 = P_2 - P_0 / P_2 \cdot 100 \text{ и т.д.}$$

Рассчитать интенсивность транспирации и скорость потери водного запаса в мг воды на 1 г сухого веса и на 1 дм<sup>2</sup> в час.

Построить графики зависимости транспирации и скорости потери воды от времени, сравнить ход кривых у разных растений.

Результаты измерений и расчетов записать в табл. 3.

Таблица 3

Интервалы времени, мин	Вес листьев, мг	Разность отсчетов	Интенсивность транспирации и потери воды, мг/дм <sup>2</sup> · час	Влажность листьев, %	Интенсивность транспирации и потери воды, мг /г сух. веса·час
0	P <sub>1</sub>				
5	P <sub>2</sub>	P <sub>1</sub> - P <sub>2</sub>			
5	P <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> - P <sub>3</sub>			
15	P <sub>4</sub>	P <sub>3</sub> - P <sub>4</sub>			
15	P <sub>5</sub>	P <sub>4</sub> - P <sub>5</sub>			

### Работа 8

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДОУДЕРЖИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ РАСТЕНИЙ МЕТОДОМ ЗАВЯДАНИЯ

В регулировании водообмена растений существенная роль принадлежит водоудерживающим силам клеток растений, обусловленным содержанием в них осмотически активных и коллоидных веществ.

Водоудерживающая способность клеток зависит от устойчивости видов к экстремальным условиям и от условий выращивания. Кроме того, водоудерживающая способность листьев зависит от реакции устьичного аппарата на срезание: у устойчивых видов устьица быстрее закрываются, чем у неустойчивых. Таким образом этот показатель может характеризовать засухоустойчивость и газоустойчивость видов.

**Материалы и оборудование.** 1. Листья растений мезофитов и ксерофитов. 2. Вазелин. 3. Торсионные весы. 4. Ножницы.

**Ход работы.** Срезать по три листа растений, покрыть срез черешка разогретым вазелином. Взвешивают каждый лист и записывают вес и время взвешивания. Повторно листья взвешивают через 30 мин., 60 мин. и 90 мин. Убыль в весе листа показывает абсолютное количество потери воды за интервал времени. По полученным данным вычисляют количество испаренной воды в процентах к первоначальному весу листа. Показать на графике динамику относительной водоотдачи вида по средним показателям из трех по-

вторностей. Сделать заключение о водоудерживающей способности растений.

## Работа 9

### НАБЛЮДЕНИЕ ЗА ДВИЖЕНИЕМ УСТЬИЦ

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

**Материалы и оборудование:** 1. Растворы глицерина (5% - и 20% - ный); 2. 1М раствор сахарозы; 3. Микроскопы; 4. Предметные и покровные стекла; 5. Препаровальные иглы; 6. Фильтровальная бумага; 7. Бюксы; 8. Листья традесканции, сеткреазии, герани.

**Ход работы.** Приготавливают несколько срезов нижней эпидермы листа и помещают их на 2ч в 5%-ный раствор глицерина. Глицерин проникает в вакуоли замыкающих клеток и повышает их осмотическое давление, а следовательно и способность насасывать воду. Срезы рассматривают под микроскопом, зарисовывают. Глицерин отсасывают фильтровальной бумагой и помещают срез в дистиллированную воду. Наблюдают открытие устьиц. Заменяют воду на сильный плазмолетик – 1М раствор сахарозы. Наблюдают закрывание устьиц в результате выхода воды из клеток. Зарисовывают открытые, полуоткрытые и закрытые устьица.

## Работа 10

### ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ ЛИСТА

Пигментная система хлоропластов содержит пигменты двух типов – зеленые пигменты (хлорофилл "а" и "б") и желтые пигменты (каротиноиды, представленные каротинами и ксантофиллами). По химической природе хлорофиллы представляют собой сложные эфиры дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов – метилового ( $CH_3OH$ ) и фитола ( $C_{20}H_{39}OH$ ). В центре молекулы хлорофилла располагается атом магния, соединенный с азотом четырех пиррольных колец двумя основными и двумя дополнительными связями (металлорганическая связь). Ядро молекулы окружено чередующимися двойными и одинарными связями (конъюгированные связи). Металлорганическая и конъюгированные связи фотоактивны, то есть способны участвовать в поглощении квантов световой энергии.

Каротиноиды представляют собой производные непредельного углеводорода изопрена  $CH_2=C(CH_3)-CH=CH_2$ . Они имеют конъюгированные связи и также являются фотоактивными пигментами. Эмпирическая формула каротина –  $C_{40}H_{56}$ . Ксантофиллы – кислородные производные каротина тетра-терпены, которые содержат гидроксильную группу и поэтому легко растворяются в спирте. Наиболее распространенные ксантофиллы – лютеин ( $C_{40}H_{56}O_2$ ), виолоксантин, неоксантин.

**Материалы и оборудование:** 1. Высушенные листья крапивы. 2. Этиловый спирт. 3. Бензин. 4. Ступки с пестиками. 5. Штативы с пробирками. 6. Воронки. 7. Фильтры. 8. 20 %-ный раствор  $NaOH$ . 9. 10 %-ная соляная кислота. 10. Уксуснокислая медь или цинк. 11. Спиртовка, спички.

### **1. Получение спиртовой вытяжки пигментов**

Обычно пигменты легко извлекаются из сухих или свежих листьев полярными растворителями (спирт, ацетон), которые разрушают связь хлорофиллов и ксантофиллов с липопротеидами пластид и тем самым обеспечивают их полное экстрагирование.

**Ход работы.** Сухие листья крапивы (2–3 г) растереть в фарфоровой ступке с небольшим количеством кварцевого песка, добавляя 3–5 мл этилового спирта. Для нейтрализации кислотности можно добавить щепотку растертого мела. Отфильтровать полученную вытяжку через складчатый фильтр или вату. Оставшуюся в ступке массу повторно растирают с небольшим количеством спирта и отфильтровывают в ту же пробирку.

Полученный фильтр содержит зеленые и желтые пигменты, но из-за преобладания хлорофиллов имеет интенсивно зеленую окраску.

### **2. Разделение пигментов по Краусу**

Метод основан на различной растворимости пигментов в спирте и бензине. Эти растворители при сливании не смешиваются и образуют два слоя – верхний бензиновый и нижний спиртовой.

**Ход работы.** В чистую пробирку налить 2–3 мл спиртовой вытяжки пигментов и добавить двойное количество бензина. Закрыть пробирку пробкой и несколько раз сильно встряхнуть, чтобы перемешать содержимое, а затем дать отстояться. Произойдет расслоение смеси: в верхний бензиновый слой зеленого цвета перейдут хлорофиллы и каротин, а ксантофиллы, которые не растворяются в бензине, остаются в нижнем спиртовом слое.

Если разделение пигментов произошло не совсем чисто и нижний ксантофилловый слой сохраняет зеленоватое окрашивание, в раствор добавляют 2–3 капли дистиллированной воды и вновь встряхивают. При помутнении ксантофиллового слоя следует прилить в пробирку немного этилового спирта и снова встряхнуть ее.

Зарисовать результат опыта цветными карандашами с указанием слоев и пигментов в них.

### **3. Омыление хлорофилла щелочью**

Обрабатывая хлорофилл щелочью, можно вызвать омыление эфирных групп, то есть отщепление остатков метилового спирта и фитола, и осаждение образующейся при этом соли хлорофиллиновой кислоты в раствор спирта. Соль хлорофиллиновой кислоты сохраняет зеленую окраску и оптические свойства хлорофилла, но отличается большей гидрофильностью. В верхнем бензиновом слое остается каротин, придавая ему желтовато-оранжевую окраску.

**Ход работы.** В пробирку налить 1–2 мл спиртового раствора пигментов и несколько капель 20 %-ного раствора щелочи или несколько гранул щелочи, перемешать. Прилить равный объем бензина и взболтать содержимое, дать отстояться. Произойдет разделение содержимого пробирки на два слоя, но теперь зеленым будет нижний спиртовой слой, а бензиновый - желтый.

Зарисовать пробирку с образовавшимися слоями и указать распределение пигментов.

### **4. Получение феофитина и обратное замещение водорода атомом металла**

Хлорофиллы содержат в порфириновом ядре слабо удерживаемый атом магния. При действии сильной кислоты магний хлорофилла замещается двумя атомами водорода, что приводит к образованию вещества бурого цвета – феофитина.

Если на феофитин подействовать солями меди, цинка или ртути, то два протона в порфириновом ядре вновь замещаются на атом металла и восстанавливается зеленая окраска. Следовательно, цвет хлорофилла связан с наличием металлоорганической связи в молекуле.

**Ход работы.** В пробирку наливают 2–3 мл спиртовой вытяжки пигментов и прибавляют 2 капли 10 %-ной HCl. При взбалтывании пробирки зеленая окраска хлорофилла переходит в бурую – образуется феофитин. Затем в пробирку с феофитином добавляют несколько кристалликов уксуснокислой меди или цинка и пробирку осторожно нагревают на спиртовке до начала кипения раствора. Отметить восстановление зеленой окраски раствора.

Обдумать результаты и сделать выводы о химических свойствах пигментов.

## Работа 11

## ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ

К физическим свойствам пигментов относят два наиболее важных: спектры поглощения света и флуоресценцию.

**Материалы и оборудование:** 1. Спиртовая вытяжка пигментов. 2. Раствор каротина (бензиновый слой, полученный после омыления хлорофилла) и ксантофилла. 3. Пипетки на 1 мл. 4. Спектроскоп. 5. Пробирки.

**1. Определение спектра поглощения хлорофилла и каротиноидов**

Спектры поглощения света отдельных пигментов зависят от физико-химического строения молекулы и их свойств. У хлорофилла "а" и "б" имеются два максимума поглощения света: в красной области соответственно 665 и 649 нм и в сине-фиолетовой - 430 и 450 нм. Минимум поглощения лежит в зоне зеленых лучей, чем объясняется зеленая окраска пигментов и растений. В живом листе спектр поглощения света хлорофиллами несколько иной. Так, красный максимум хлорофилла "а" имеет несколько пиков поглощения: 670, 683 и 700 нм; у хлорофилла "б" он приходится на длину волн 650-655 нм. Аналогичное смещение в сторону длинных волн имеет и максимум поглощения в синей части спектра. Расширение спектров поглощения света и сдвиг максимумов в длинноволновую область у хлорофиллов в живом листе вызван влиянием липопротеидного комплекса хлоропластов, в котором они встроены.

Каротиноиды и ксантофиллы поглощают свет только в сине-фиолетовой области спектра.

**Ход работы.** Устанавливают спектроскоп по отношению к свету так, чтобы все области спектра имели одинаковую яркость. В кювету или пробирку наливают спиртовую вытяжку хлорофилла, помещают ее перед щелью спектроскопа и определяют положение темных полос, которые соответствуют лучам, поглощаемым хлорофиллом. Ширина и интенсивность темных полос зависят от концентрации пигмента и толщины слоя его раствора. Разбавляют вытяжку пигментов спиртом в отношении 1:1; 1:2; 1:4 и сравнивают спектры поглощения растворов с разной концентрацией хлорофилла.

Зарисовать спектры поглощения света и объяснить полученную разницу.

Для получения спектра поглощения каротина осторожно пипеткой берут бензиновый раствор, в котором остался каротин после омыления хлорофиллов щелочью, переносят его в кювету и помещают перед щелью спектроскопа. Рассматривают и зарисовывают спектр поглощения света каротином.

## **2. Наблюдение флуоресценции хлорофилла**

При поглощении хлорофиллом кванта света, один из его электронов переходит на более высокий энергетический уровень и молекула оказывается в "возбужденном" состоянии. При переходе "возбужденной" молекулы хлорофилла в обычное состояние энергия кванта может выделяться в виде излучения, или флуоресценции, но с большей длиной волны. Независимо от длины волны возбуждающего света хлорофилл флуоресцирует только в красной части спектра. В живых листьях хлорофилл излучает свет гораздо слабее, так как часть поглощенной энергии расходуется на фотохимические реакции. Возрастание интенсивности фотосинтеза ведет к ослаблению флуоресценции.

Способность зеленых листьев сбрасывать избыточную энергию в процессе флуоресценции имеет важное приспособительное значение, так как в естественных условиях не все растения переносят высокую освещенность местообитания. Сбрасывая излишне поглощенную энергию, растения предотвращают фотоокисление зеленых пластидных пигментов.

**Ход работы.** Для наблюдения флуоресценции спиртовую вытяжку пигментов или раствор хлорофилла в бензине, полученный при разделении пигментов по Краусу, сначала рассматривают в проходящем свете, например, перед лампой накаливания или перед окном. Раствор пигмента будет иметь изумрудно-зеленый цвет. Затем ту же пробирку рассматривают в отраженном свете, поместив на темный фон и за источником света. Отметить вишнево-красную окраску раствора.

Флуоресценцию можно наблюдать и в живом листе. Для этого элодею помещают на предметное стекло и освещают сине-фиолетовым светом. Под действием света хлоропласты начинают светиться красным светом.

## **Работа 12**

### **СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЯХ РАСТЕНИЙ**

Концентрация пластидных пигментов спектрофотометрическим методом определяется по оптической плотности вытяжки пигментов. Он позволяет с большой точностью проводить анализ пигментов без предварительного их разделения.

**Материалы и оборудование.** 1. Спектрофотометр. 2. Ступки с пестиками, мерные колбы на 25 мл, воронки, штатив с пробирками. 3. Торзионные весы, ножницы, вата, кюветы. 4. 80 %-ный ацетон или 96 %-ный раствор этилового спирта.



**Ход работы.** Навеску растительного материала (100 мг) измельчают ножницами, помещают в фарфоровую ступку и растирают с добавлением 1-2 мл 80 %-ного ацетона или 96 %-ного этилового спирта. Для нейтрализации кислот клеточного сока и предотвращения образования феофитина в ступку добавляют небольшое количество растертого мела. Добавляют еще 4-5мл ацетона или спирта и полученную вытяжку фильтруют в пробирку через плотно вставленный в воронку ватный тампон. Ступку ополаскивают новыми порциями ацетона или спирта, которые количественно без потерь сливают каждый раз в воронку. Общий объем использованного для одной пробы растворителя должен быть 10 мл. Фильтрат содержит смесь зеленых и желтых пигментов.

Концентрацию хлорофилла "а" и "б" и суммы каротиноидов определяют в одной вытяжке. Измерение оптической плотности производят в следующем порядке.

1. Включить спектрофотометр. Установить в кюветное отделение кюветы с контрольным раствором (ацетоном или спиртом), по отношению к которому производится измерение, и с исследуемым раствором. Закрывать кюветное отделение.

2. В световой пучок установить кювету с контрольным раствором (рукоятка кюветодержателя - влево до упора). Установить длину волны, на которой проводится измерение. Длина волны высветится на верхнем цифровом табло. Нажать клавишу "Г", а затем "П". На нижнем световом табло высветится "П 100,0".

3. При закрытом кюветном отделении ввести в световой пучок кювету с исследуемым раствором (рукоятку кюветодержателя установить вправо до упора). Нажать клавишу "Е" и снять отсчет на нижнем световом табло.

Концентрацию хлорофилла "а" и "б" рассчитывают по формулам.

*Для 80 %-ного ацетона:*

$$C_{\text{хл. "а"}} = 11,63 D_{665} - 2,39 D_{649};$$

$$C_{\text{хл. "б"}} = 20,11 D_{649} - 5,18 D_{665}.$$

*Для 96 %-ного раствора этилового спирта:*

$$C_{\text{хл. "а"}} = 13,70 D_{665} - 5,76 D_{649};$$

$$C_{\text{хл. "б"}} = 25,80 D_{649} - 7,60 D_{665}.$$

где  $C_{\text{хл. "а"}}$ ,  $C_{\text{хл. "б"}}$  - соответственно концентрации хлорофиллов "а" и "б", мг/л;

$D_{665}$  и  $D_{649}$  - экспериментально полученные величины оптической плотности при соответствующих длинах волн (665 и 649 нм).

Для определения концентрации суммы каротиноидов в суммарной вытяжке пигментов используют формулу:

$$C_{кар.} = 4,695 D_{440,5} - 0,268 (C_{хл."а"} + C_{хл."б"}),$$

где  $C_{хл."а"}$ ,  $C_{хл."б"}$ ,  $C_{кар.}$  - концентрации соответственно хлорофиллов "а", "б" и каротиноидов, мг/л;

$D_{440,5}$  - оптическая плотность при длине волны 440,5 нм.

Установив концентрацию пигментов в вытяжке, рассчитывают их содержание в листьях с учетом объема вытяжки и навески листьев по формуле:

$$A = \frac{V \cdot C}{P \cdot 1000},$$

где  $A$  - содержание пигмента в листьях, мг/г сырой массы;

$C$  - концентрация пигмента, мг/л;

$V$  - объем вытяжки, мл;

$P$  - навеска листьев, г.

Рассчитать отношения хлорофилла "а" к хлорофиллу "б" и суммы хлорофиллов к каротиноидам. Данные записать в табл. 4.

Таблица 4

Вид	Оптическая плотность			Концентрация пигментов			Содержание пигментов			$\frac{C_{хл.а}}{C_{хл.б}}$	$\frac{C_{хл.а+б}}{C_{кар}}$
	$D_{665}$	$D_{649}$	$D_{440,5}$	$C_{хл.а}$	$C_{хл.б}$	$C_{кар}$	$A_{хл.а}$	$A_{хл.б}$	$A_{кар}$		

Сравнить полученные показатели у разных видов. По отношению содержания пластидных пигментов сделать выводы о светолюбивости или теневыносливости видов.

### Работа 13

#### СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕРОДА В ЛИСТЯХ МОКРЫМ СЖИГАНИЕМ

Об интенсивности фотосинтеза можно судить по накоплению углерода в синтезируемых органических веществах. Этот метод позволяет с большой точностью определить содержание углерода в растительном материале. Количество ассимилированного углерода определяют по разнице между со-

держанием его в листьях в начале опыта и через три часа пребывания растения на свету.

Значительные погрешности метода связаны с трудностью учета затрат органических веществ на дыхание и оттока их из листа в другие органы растения. Об этом нужно помнить, анализируя полученные данные.

**Материалы и оборудование.** 1. Пробирки на 10 мл. 2. Пробочные сверла диаметром 5–10 мм. 3. Мерные стаканчики. 4. Бюретки. 5. Спектрофотометр КФК-3.

**Приготовление хромовой смеси.** Для приготовления 1 л 0,4 N раствора бихромата калия 19,614 г  $K_2Cr_2O_7$  растворяют в 500 мл дистиллированной воды, переносят в мерную колбу на 1 л. В качестве катализатора приливают 10 мл 10%-го раствора  $CuSO_4$  и раствор доводят до метки дистиллированной водой. Хромовую смесь получают разбавлением концентрированной серной кислотой в соотношении 1:1.

**Ход работы.** На дереве из листа определенного яруса высекают сверлом диски (от 5 до 10 штук) и помещают их в пробирку, в которую приливают 10 мл 0,2 N хромовой смеси. Реакционную смесь слабо кипятят в течение 5 мин. на песчаной бане. После полного охлаждения раствор из пробирки количественно переносят дистиллированной водой в мерный стаканчик на 50 мл, доводят до метки и тщательно перемешивают. Через 3 часа из оставшейся части листовой пластинки вновь берут такое же число дисков для вторичного определения и проделывают ту же работу. Для контроля в песчаную баню помещают пробирку с хромовой смесью, но без растительного материала. Ее также кипятят и разводят дистиллированной водой до 50 мл.

Оптическую плотность полученных растворов определяют в кювете с толщиной слоя 2 см на спектрофотометре при длине волны 582 нм, беря за 100 % оптическую плотность контрольного раствора хромовой смеси.

Показания шкалы переводят в величины концентрации глюкозы при помощи калибровочного графика. Для построения калибровочного графика берут 10 пробирок, в которые приливают соответственно 0,1; 0,2; 0,3 и т.д. до 1,0 мл стандартного раствора глюкозы и по 10 мл 0,2 N хромовой смеси. Содержание всех пробирок слабо кипятят в течение 5 мин. на водяной бане. После охлаждения растворы из пробирок количественно переносят в мерные стаканчики на 50 мл и доводят дистиллированной водой до метки. Содержимое перемешивают и измеряют их оптическую плотность. На оси абсцисс откладывают концентрацию глюкозы (мг на 50 мл), а на оси ординат - соответствующие им значения оптической плотности. Точки пересечения соединяют и получают калибровочный график.

Учитывая соотношения атомной (или молекулярной) массы, выполняют пересчет органического вещества на углерод ( $M_c$ ) или диоксид углерода ( $M_{CO_2}$ ):

$$M_c = 0,4 \text{ Мгл};$$

$$M_{CO_2} = 1,47 \text{ Мгл},$$

где  $M_{гл}$  - количество глюкозы, соответствующее содержанию органического вещества в растительной пробе, мг; 0,4 и 1,47 - коэффициенты пересчета соответственно на углерод и диоксид углерода.

Количество углерода органического вещества (в мг), содержащегося в кусочке листа площадью в  $1 \text{ дм}^2$ , рассчитывают по формуле:

$$X = 0,4 \text{ Мгл} \cdot 100/S,$$

где  $S$  - площадь высечек в  $\text{см}^2$ .

Результаты опыта записывают в табл. 5.

Таблица 5

Вариант	Площадь высечек, $\text{см}^2$	Объем раствора, мл	Показания шкалы	Содержание глюкозы, мг/50 мл	Содержание углерода, мг/ $\text{дм}^2$	Интенсивность фотосинтеза, мг/ $\text{дм}^2 \cdot \text{час}$
<i>Начало опыта</i>						
<i>Через 3 часа</i>						

## Работа 14

### НАКОПЛЕНИЕ ПЕРВИЧНОГО (АССИМИЛЯЦИОННОГО) КРАХМАЛА В КЛЕТКАХ ЛИСТЬЕВ $C_3$ -И $C_4$ -РАСТЕНИЙ

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

**Материалы и оборудование:** 1. Микроскопы. 2. Осветители. 3. Предметные и покровные стекла. 4. Лезвия безопасной бритвы. 5. стакан с водой. 6. Препаровальные иглы. 7. Стеклянные палочки. 8. Фильтровальная бумага. 9. Кусочки пенопласта или бузины. 10. Раствор Люголя. 11. 30% раствор  $NaOH$  или  $KOH$ . 12. Листья растений кукурузы и  $C_3$ -растений (хлорофитум, традесканция и др.), выдержанные несколько часов на ярком свете, свежие или фиксированные 70% этиловым спиртом.

**Ход работы.** Продольные и поперечные срезы листьев кукурузы и  $C_4$ -растений делают острым лезвием безопасной бритвы. Для получения поперечных срезов используют кусочки бузины или пенопласта. Срезы помещают на предметное стекло в каплю 30% раствора щелочи для их просветления. Через 10–15 мин. щелочь отсасывают фильтровальной бумагой, срезы промывают водой и добавляют каплю раствора Люголя. Затем срезы накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом при малом и при большом увеличении.

Изучая срезы, обращают внимание на локализацию крахмала в клетках листа. У кукурузы крахмал локализуется в клетках обкладки проводящих пучков и в клетках устьиц. В остальных клетках мезофилла, расположенных между жилками, крахмала нет. Поэтому на продольном срезе проводящие пучки с обкладкой четко выделяются как темные полосы, а на поперечном срезе выглядят в виде черной короны (так называемая кранц-анатомия), окружающей неокрашенные ткани ксилемы. В листьях  $C_3$ -растений крахмал находится во всех клетках мезофилла, а также в замыкающих клетках устьиц. Неокрашенными остаются только клетки эпидермы и сосудистые пучки.

## Работа 15

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗЫ ПО А.Н.БОЯРКИНУ

Метод основан на измерении времени, за которое опытный раствор достигает определенной оптической плотности. В качестве субстрата используют бензидин, в результате окисления которого образуется соединение синего цвета.

Пероксидаза относится к классу оксидоредуктаз, представляя группу оксидаз. Она участвует в дыхательном цикле и катализирует реакции переноса водорода на кислород воздуха. В экстремальных условиях у растений активизируется дыхание и повышается активность пероксидазы. По активации пероксидазы можно оценить степень влияния фактора и состояние растений.

**Материалы и оборудование.** 1. Листья растений. 2. Ацетатный буферный раствор с  $pH = 5,4$ . 3. Раствор бензидина на ацетатном буфере.

4. 0,03 %-ная перекись водорода. 5. Центрифуга с пробирками. 6. Спектрофотометр. 7. Секундомер. 8. Мерные колбы на 25 мл, пипетки на 2 мл, фарфоровые ступки с пестиками, воронки, фильтры.

*Приготовление бензидина.* В мерную колбу емкостью 200 мл наливают на 2/3 дистиллированной воды, прибавляют 2,3 мл (2,4 г) ледяной уксусной кислоты и 184 мг бензидина. Колбу подогревают до 50–60° С на водяной бане при постоянном взбалтывании содержимого. После полного растворения бензидина (10–15 мин.) добавляют 5,45 г уксуснокислого натрия, полностью его растворяют и доливают раствор водой до метки (200 мл). Раствор может храниться в темном месте 7–10 дней.

*Ход работы.* 100 мг растительного материала растирают в ступке с 15 мл ацетатного буфера. Вытяжку переносят в пробирку центрифуги и центрифугируют в течение 10 мин. при 3000 об./мин. Аккуратно сливают надосадочную жидкость. Осадок отбрасывают. Для измерения активности фермента лучше брать вытяжку такого разведения, чтобы окраска изменялась до заданной плотности за 10–40 с, так как активность пероксидазы пропорциональна концентрации центрифугата только в самом начале реакции.

В кювету толщиной 2 см наливают по 2 мл центрифугата, 2 мл ацетатного буфера и 2 мл бензидина. Включить спектрофотометр. Установить в кюветное отделение кювету с исследуемым раствором. Закрывать кюветное отделение. Отвести рукоятку кюветодержателя влево до упора. Установить длину волны – 580 нм. Длина волны высветится на верхнем цифровом табло. Нажать клавишу "Г", а затем "П". На нижнем световом табло высветится "П 100,0".

При закрытом кюветном отделении ввести в световой пучок кювету с исследуемым раствором (рукоятку кюветодержателя установить вправо до упора). Нажать клавишу "Е" и записать значение оптической плотности на нижнем световом табло. Затем набрать в мерную пипетку с широким носиком 2 мл  $H_2O_2$ , открыть кюветное отделение, быстро влить перекись водорода в кювету и закрыть кюветное отделение. Одновременно с первой каплей перекиси водорода включают секундомер. В опытной кювете раствор синее и оптическая плотность увеличивается. В момент достижения раствором первоначального значения оптической плотности секундомер останавливают и записывают время. Проводят три определения и рассчитывают среднее значение времени.

Активность фермента рассчитывают по формуле:

$$A = \frac{V \cdot a \cdot b}{m \cdot t \cdot d},$$

где  $A$  - активность пероксидазы (изменение оптической плотности за 1 с на 1 г сырой массы растительной ткани);

$V$  - количество жидкости, взятой для приготовления вытяжки в мл (в нашем случае - 15 мл);

$m$  - масса навески, г;

$a$  - степень постоянного разведения вытяжки в реакционной смеси (при данных условиях - 4);

$b$  - степень дополнительного разведения вытяжки (если это потребуется);

$t$  - время, с;

$d$  - толщина слоя жидкости в кювете, см.

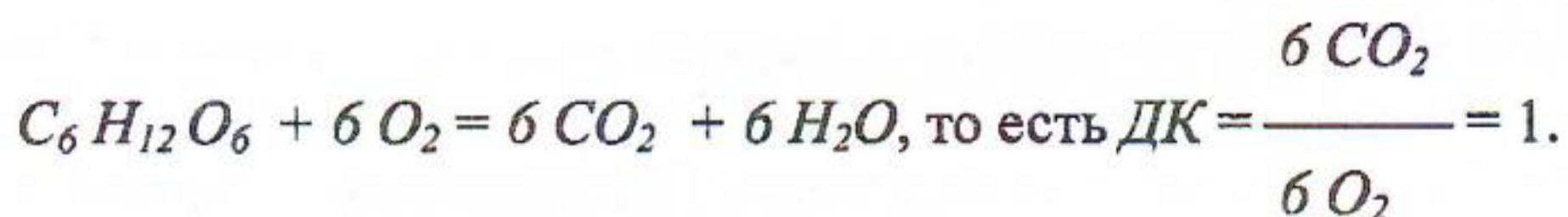
Сделать выводы об активности пероксидазы для различных растений.

## Работа 16

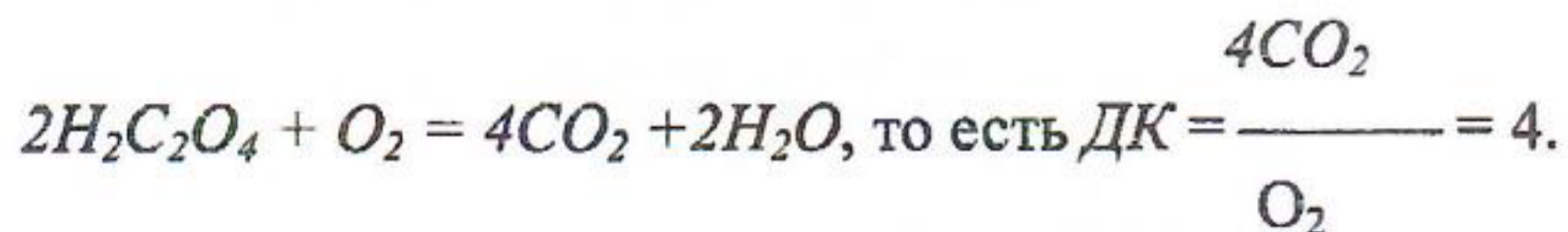
### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЫХАТЕЛЬНОГО КОЭФФИЦИЕНТА

Дыхательным коэффициентом (ДК) называется отношение объема выделенного при дыхании  $CO_2$  к объему поглощенного  $O_2$ . Величина этого отношения характеризует химизм дыхания и может изменяться в зависимости от используемых на дыхание органических соединений, содержания и использования кислорода.

Если дыхательным субстратом служат углеводы, реакция идет по уравнению:

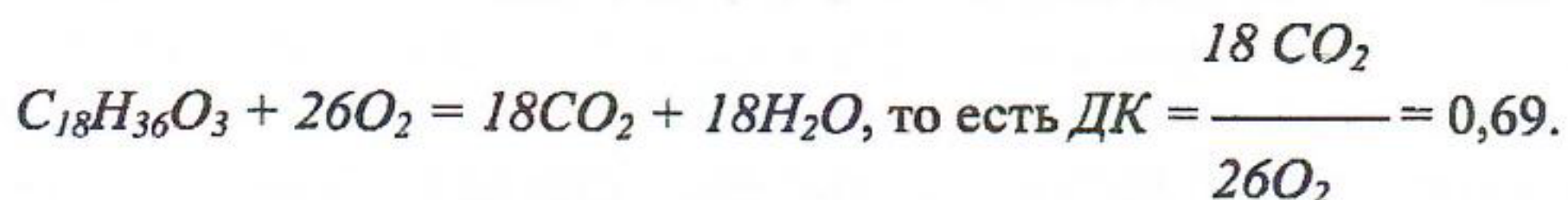


Если дыхательным субстратом служат органические кислоты, содержащие больше кислорода на 1 атом углерода, чем углеводы, то дыхательный коэффициент будет больше 1. Так, при дыхании за счет щавелевой кислоты -



Если на дыхание используются жиры или белки - соединения обогащенные водородом, то дыхательный коэффициент будет иметь значение

меньше 1, так как на окисление водорода потребуется дополнительное количество кислорода. Например, при окислении стеариновой кислоты —



При недостатке кислорода в атмосфере или затруднении его доступа в клетки и ткани (погруженные в воду семена, ткани в глубине массивных органов) усиливается анаэробное дыхание. При этом окисление субстрата и выделение  $CO_2$  происходят без поглощения кислорода воздуха. В этом случае ДК будет больше 1.

**Материалы и оборудование.** 1. Прибор для определения дыхательного коэффициента, который состоит из колбы с плотно пригнанной пробкой, в которую вставлена изогнутая под острым углом измерительная трубка. 2. Проросшие семена гороха, подсолнечника, овса. 3. Стеклянные бюксы, пинцет, фильтровальная бумага, ватка на нитке, штатив. 4. Часы. 5. Раствор концентрированной  $NaOH$ . 6. Раствор эозина или любого красителя, не окрашивающего стекло.

**Ход работы.** Предварительно замочить семена гороха, подсолнечника и овса для прорастания. В колбу, примерно до половины, насыпать проросшие семена одного вида и плотно закрыть пробкой.

Конец капиллярной трубки опустить в бюкс с раствором эозина, а колбу укрепить на штативе. Опыт ведется при комнатной температуре. Отметить положение мениска окрашенного раствора в трубке. Через 5 или 10 мин. в зависимости от интенсивности дыхания отмечают число делений, на которые поднялся эозин. Измерение еще раз повторить за тот же промежуток времени. После этого осторожно открыть и вынуть трубку из раствора эозина. В колбу под пробку поместить комочек ваты на нитке, смоченный в щелочи. Плотно закрыть колбу, укрепить на штативе и поместить конец измерительной трубки в эозин. Снова провести измерение движения раствора эозина в трубке за те же интервалы времени. Опыт поставить в 3-кратной повторности. После окончания опыта семена подсушить на фильтровальной бумаге и взвесить.

Первый отсчет (А) будет соответствовать разности объемов поглощенного кислорода и выделенного углекислого газа за данный промежуток времени. Отсчет в варианте с щелочью (В) выражает объем только поглощенного кислорода, так как выделенный углекислый газ поглощает щелочь.

Объем выделенного  $CO_2$  находят по формуле:  $B - A$ .

Отсюда  $ДК = (B - A) / B$ .



Если можно деления шкалы измерительной трубки перевести в миллилитры, то по данным опыта можно вычислить интенсивность дыхания проросших семян в мл  $O_2$  или  $CO_2$  на 1 г семян за 1 час.

$$Ид = \frac{(B-A) \cdot 60}{M \cdot T} \quad (\text{в мл } CO_2 \text{ на 1 г \cdot час});$$

$$Ид = \frac{B \cdot 60}{M \cdot T} \quad (\text{в мл } O_2 \text{ на 1 г в час}),$$

где  $Ид$  – интенсивность дыхания;

$M$  – вес семян, г;

$T$  – интервал времени измерения, мин.

Сделать выводы об интенсивности дыхания и дыхательном субстрате различных видов семян.

## Работа 17

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ЗОЛЯ В РАЗЛИЧНЫХ ЧАСТЯХ ДРЕВЕСНОГО РАСТЕНИЯ

Содержание зольных элементов в растении весьма непостоянно и изменяется под влиянием различных условий в довольно широких пределах. Однако количественное соотношение элементов в различных органах растений остается более или менее постоянным. Из всех органов наиболее богаты зольными элементами листья (до 15 %) и мелкие всасывающие корни, относительно высокое содержание золы в коре деревьев и корнях, несколько меньшее – в стеблях травянистых растений и в семенах, а меньше всего – в древесине (десятые доли процента), содержащей относительно мало живых клеток и состоящей преимущественно из углерода, водорода и кислорода, улетучивающихся при прокаливании. Масса золы неодинакова у различных видов деревьев и в различных условиях местообитания, а также зависит от возраста.

**Материалы и оборудование.** 1. Древесина, побеги, почки, листья, семена, хвоя и почки различных растений. 2. Муфельная печь, тигли. 3. Тор-

зионные весы. 4. Щипцы с изогнутым концом. 5. Вытяжной шкаф. 6. Эксикатор.

**Ход работы.** Взвесить материал для сжигания. Примерная навеска сжигаемого материала (М) - 1 г для листьев и побегов и 4 г для древесины. Весь отвешенный материал переносят без потерь в тигли, пронумерованные с нижней стороны мягким карандашом. Поместить тигли в муфельную печь и обугливать сначала при средней нагретости. После прекращения выделения дыма (работа ведется в вытяжном шкафу) тигли с озоляемым материалом прокалить при более сильном нагреве 15-20 мин. до получения белой или коричневатой окраски золы.

Тигли вынимают из муфеля с помощью тигельных щипцов, ставят на асбестовую подставку, дают немного остыть и переносят в эксикатор.

Охлажденный до температуры руки тигель с золой взвешивают на весах с точностью до 0,01 г. Записывают вес тигля с золой (А).

Освобождают тигель от золы и снова взвешивают с той же точностью. Записывают вес тигля без золы (В).

Определяют вес золы:

$$m = A - B.$$

Вычисляют вес золы во взятом материале:

$$X = m/M \cdot 100\%.$$

Полученные данные для различных частей дерева и для отдельных пород занести в табл 6.

Таблица 6

Порода	Содержание зольных веществ		
	древесина	побеги	почки или хвоя

Сравнить полученные данные для различных частей деревьев разных пород. Объяснить с чем это связано.

Оставшуюся после работы золу аккуратно переносят в пробирки с этикеткой для микрохимического анализа.

## Работа 18

### МИКРОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗОЛЫ

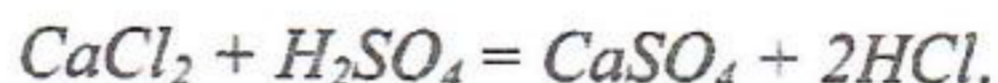
Химический состав золы древесины сложен и разнообразен. Он зависит от биологических особенностей дерева и состава почвы, на которой оно выросло. В основе микрохимического метода лежит способность некоторых

солей с реактивами давать кристаллы характерной формы, свойственные только этим солям. Этим методом определяются кальций и магний. С некоторыми солями реактивы дают специфическое окрашивание. Этот прием используется для определения фосфора и железа.

**Материалы и оборудование.** 1. Зола березы или сосны. 2. Микроскоп. 3. Пробирки, фильтровальная бумага, предметные стекла, воронки, стеклянные палочки. 4. 10%-ный раствор соляной кислоты, 1%-ный раствор  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1%-ная серная кислота, 10%-ный раствор аммиака, 1 %-ный раствор желтой кровяной соли, 1%-ный раствор молибденовокислого аммония в 15 %-ной азотной кислоте.

**Ход работы.** В пробирку с золой наливают 10 %-ный раствор соляной кислоты в объеме примерно в 4 раза большем, чем объем золы. Взбалтывают до растворения. Полученный раствор отфильтровывают через складчатый фильтр. Берут 3 тщательно вымытых сухих предметных стекла и раскладывают на бумаге. На стекла наносят тонкими стеклянными палочками по капле соответствующего реактива. Рядом от капли реактива наносят каплю испытуемого раствора. Обе капли соединяют, чтобы содержимое смешалось. Стекла этикетировывают и оставляют до тех пор, пока не подсохнут. При малом и большом увеличении микроскопа рассматривают образовавшиеся кристаллы зольных элементов.

Для обнаружения *кальция* берут 1 %-ный раствор серной кислоты:

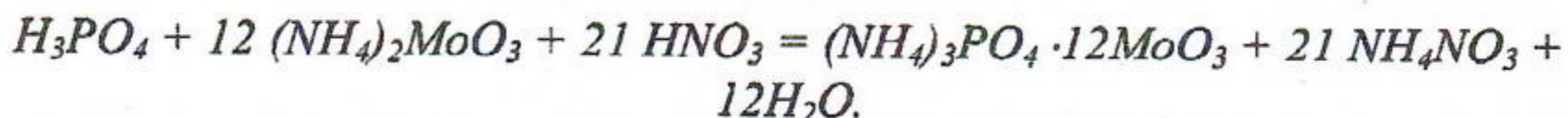


В результате реакции выпадает осадок – игольчатые кристаллы.

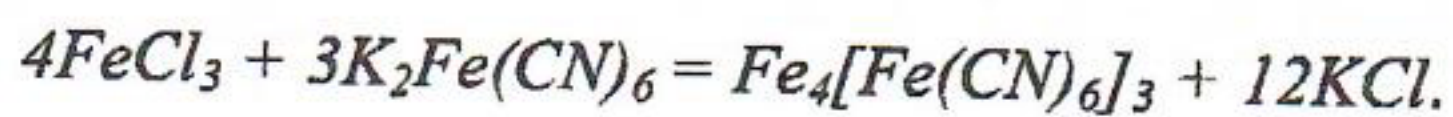
Чтобы обнаружить *магний*, каплю испытуемого раствора сначала нейтрализуют аммиаком (в каплю испытуемого раствора вносят небольшую каплю аммиака), а затем соединяют капли реактива, которым является 1 %-ный раствор кислого фосфорнокислого натрия. В результате смешивания выпадают характерные кристаллы фосфорноаммиачномагнезиальной соли:



Для открытия *фосфора* каплю раствора соединяют с 1 %-ным раствором молибденовокислого аммония в 15 %-ной азотной кислоте. Получается зеленовато-желтый скрытокристаллический осадок фосфорномолибденового аммиака – аммонийнофосфорного молибдата  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3$ , принимающего со временем все более интенсивную зеленую окраску.



Для открытия *железа* пользуются обычной цветной реакцией с 1 % -ным раствором желтой кровяной соли (реакция проводится в пробирке). При этом образуется берлинская лазурь с интенсивно синей окраской.



Зарисовать все виды и формы кристаллов при определении исследуемых зольных элементов. Указать, почему зола является одним из ценнейших комплексных удобрений.

## Работа 19

### ДИАГНОСТИКА ПОТРЕБНОСТИ РАСТЕНИЙ В АЗОТЕ И ФОСФОРЕ

Азотное и фосфорное питание растений происходит путем поглощения из почвы анионов – нитратов, нитритов и фосфатов. При большом количестве в почве и энергичном поглощении часть ионов не успевает перерабатываться растением и может быть обнаружена в клеточном соке. Это указывает на высокую обеспеченность растений азотом и фосфором. Недостаток в почве указанных ионов снижает их количество в клеточном соке, что ведет к снижению продуктивности растений. Для правильных выводов об уровне азотного и фосфорного питания растений необходим одновременный анализ почвы и растений.

**Материалы и оборудование.** 1. Листья растений. 2. Дифениламинный реактив. 3. Реактив Кирсанова. 4. Оловянные палочки. 5. Чашки Петри. 6. Стеклянные палочки.

**Приготовление дифениламинового реактива.** Растворить на холоду в 10 мл серной кислоты 100 мг дифениламина.

**Приготовление реактива Кирсанова.** Растворить при осторожном нагревании 1 г  $(\text{NH}_4)_2\text{MvO}_4$  в 20 мл воды, охладить и добавить 20 мл  $\text{HCl}$  и 160 мл воды.

**Ход работы.** Для всех определений брать небольшие (с пшеничное зерно) кусочки черешков листьев. Раздавить их стеклянной палочкой, добавить 2–3 капли реактива на соответствующий ион и смешать его с соком, выделенным из ткани. Для определения количества ионов  $\text{NO}_3^-$  используют раствор дифениламина в серной кислоте. Для открытия ионов  $\text{PO}_4^{2-}$  используют реактив Кирсанова, при этом необходимо произвести растирание оловянной палочкой для насыщения раствора хлористым оловом. Оценка концентрации ионов в клеточном соке производится по калибровочной шкале. Полученные данные заносят в табл. 7.

Вариант опыта	Концентрация нитрат- ионов	Концентрация фосфат - ионов	Выводы

## Работа 20

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗИМОСТОЙКОСТИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ПО П. А. ГЕНКЕЛЮ И Е. З. ОКНИНОЙ

П. А. Генкель и Е. З. Окнина (1954) разработали и предложили осуществлять диагностику морозоустойчивости древесных растений по глубине покая их тканей и клеток, при которой цитологически определяются: степень обособления протоплазмы в клетках, исчезновение плазмодесм и изменение биохимического состава веществ. Оказалось, что эти процессы происходят в осенне-зимний период у всех древесных растений, но разница между морозоустойчивыми и неустойчивыми видами заключается в разной интенсивности и выраженности этих процессов.

У зимостойких видов в глубоком покое в клетках почек более полно идет обособление протоплазмы и исчезновение плазмодесм, полностью исчезает крахмал, превращаясь в сахара и жиры.

У незимостойких видов обособление протоплазмы и исчезновение плазмодесм выражено слабее и не весь крахмал превращается в сахар и жиры.

**Материалы и оборудование:** 1. Почки древесных растений разной зимостойкости (осина, ясень зеленый). 2. Микроскопы. 3. Предметные и покровные стекла, пинцеты, препаровальные иглы, бритвы. 4. Раствор Люголя. 5. Спиртовой раствор  $\alpha$ -нафтола. 6. Концентрированная  $H_2SO_4$ . 7. Раствор Судана - III или Шарлаха. 8. Одномолярный раствор сахарозы. 9. Раствор роданистого калия (9,7 г в 100 мл дистиллированной воды). 10. Глицерин.

#### Ход работы.

##### 1. Реакция на крахмал

Тонкие срезы почек древесных растений поместить в раствор Люголя на часовом стекле на 5 мин. Рассмотреть срез под микроскопом. При наличии крахмала появляется сине-фиолетовая или черная окраска. Если окраска интенсивно черная, раствор Люголя следует разбавить. Содержание крахмала оценивают в баллах по 4 или 5-балльной системе. Необходимо учитывать окраску не одной клетки, а среднюю окраску в нескольких полях зрения на 3-4 срезах.

## 2. Реакция на сахара

Тонкие срезы почек древесных растений окрашивают на предметном стекле раствором  $\alpha$ -нафтола. Добавить 1–2 капли концентрированной серной кислоты. Сахара окрашиваются в цвета от розового до темно-малинового. Оценить количество сахаров в баллах.

## 3. Реакция на жиры и липиды

Тонкие срезы почек помещают на 5 мин. в раствор Судана III или Шарлаха, затем переносят на предметное стекло в раствор глицерина и рассматривают в микроскоп. Жиры окрашиваются в ярко-красный или оранжевый цвет. Провести оценку содержания жиров в баллах.

## 4. Характер плазмолиза клеток

О покое можно судить по форме плазмолиза в одномолярном растворе сахарозы. Срезы почек помещают на часовом стекле в каплю сахарозы и оставляют на 5 мин., затем рассматривают под микроскопом. В вегетирующих клетках появляется вогнутый плазмолиз, а в покоящихся – выпуклый.

## 5. Время наступления колпачкового плазмолиза

Время наступления колпачкового плазмолиза является показателем набухаемости протоплазмы и глубины покоя клеток. Чем более зимостоек вид, тем глубже у него покой и тем больше надо времени для появления колпачкового плазмолиза.

Тонкие срезы почек древесных растений помещают в каплю раствора роданистого калия. В начале под микроскопом виден выпуклый плазмолиз, затем под влиянием проникающих в мезоплазму ионов роданита ( $CNS^-$ ) происходит набухание вне мезоплазмы с образованием колпачков.

Обычно в покоящихся клетках колпачковый плазмолиз наступает через 10–15 мин. и более, а в вегетирующих – через 1–3 мин.

После проведения всего цикла исследований записать данные в табл. 8.

Таблица 8

Вид	Содержание в баллах			Время наступления колпачкового плазмолиза
	крахмал	сахара	жиры	

Оценить глубину покоя и морозоустойчивость видов и описать характер изменений у разных по морозоустойчивости видов при переходе от глубокого к вынужденному покою.

Для большей наглядности можно исследования проводить на почках, взятых непосредственно с деревьев и с ветвей этих же видов, подвергнутых в течение 10–15 дней выгонке при комнатной температуре.

## Работа 21

## ВЫЯВЛЕНИЕ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ САХАРОВ НА ПРОТОПЛАЗМУ

При воздействии отрицательных температур на растительные ткани в межклетниках образуется лед, который оттягивает воду из клеток, что приводит к обезвоживанию протопласта. При определенной степени обезвоживания, индивидуальной для каждого растения, протоплазма коагулирует.

Кристаллы льда, образующиеся непосредственно в клетках, оказывают механическое воздействие, в результате чего нарушается внутренняя структура протоплазмы, резко повышается ее проницаемость, а при дальнейшем пребывании на морозе наступает отмирание клеток. 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.

**Материалы и оборудование.** 1 – 0,5 М и 1 М растворы сахарозы; 2 – свекла; 3 – пробочные сверла; 4 – пробирки, лезвия; 5 – морозильная камера; 6 – микроскопы; 7 – поваренная соль.

**Ход работы.** Из поперечного среза красной столовой свеклы толщиной 0,5 см при помощи пробочного сверла 5-6 мм диаметром делают высечки. Высечки тщательно ополаскивают водой и помещают в три пробирки по 3-4 высечки в каждую. В первую пробирку наливают 5 мл дистиллированной воды, во вторую – 5 мл 0,5 М раствора сахарозы, в третью – 5 мл 1 М раствора сахарозы. Пробирки этикетировывают и на 20 минут погружают в охлаждающую смесь, состоящую из трех частей снега или льда и одной части поваренной соли. Затем пробирки вынимают из охлаждающей смеси и размораживают в стакане воды комнатной температуры.

Отмечают различия в интенсивности окрашивания жидкостей в пробирках и объясняют их. Из анализируемых высечек готовят тонкие срезы и рассматривают их под микроскопом при малом увеличении в капле того же раствора, в котором они находились. Подсчитывают общее число клеток в одном поле зрения и число обесцвеченных клеток, из которых вышел клеточный сок. Результаты опыта записывают в табл. 9 и делают выводы.

Таблица 9

Условия	Число клеток в поле зрения микро- скапа		Отношение числа окрашенных клеток к общему их числу, %
	всего	окрашенных	
Вода			
0,5М сахара			
1М сахара			

## Работа 22

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖАРОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПО МАЦКОВУ

Метод основан на выдерживании листьев растений, обладающих разной жароустойчивостью, в воде, температура которой постепенно повышается, и определение степени нарушения клеточных мембран в зависимости от температуры воды. Жароустойчивые растения имеют более высокий температурный порог разрушения мембран клеток.

**Материалы и оборудование:** 1 – раствор 0,2 N соляной кислоты; 2 – листья суккулентов, ксерофитов и мезофитов; 3 – водяная баня; 4 – термометр; 5 – кристаллизаторы с холодной водой; 6 – пинцет; 7 – ножницы.

**Ход работы.** Водяную баню нагревают до  $+40^{\circ}\text{C}$  и в воду опускают листья испытуемых на жароустойчивость растений. Число листьев каждого вида растений должно соответствовать количеству проводимых измерений. Через 30 минут вынимают из воды первую партию листьев и переносят в кристаллизатор с холодной водой. Температуру воды в бане поднимают на  $5^{\circ}\text{C}$  и через 10 минут вынимают вторую партию листьев, которые также переносят в холодную воду.

Постепенно температуру воды доводят до  $+80^{\circ}\text{C}$ , беря пробы через интервалы в  $5^{\circ}\text{C}$ . После этого холодную воду в кристаллизаторах заменяют на раствор соляной кислоты и через 20 минут учитывают результаты опыта. Неповрежденные листья останутся зелеными, а поврежденные буреют.

Высокая температура вызывает разрушение мембран клетки и коагуляцию белков в протоплазме. Соляная кислота проникает в поврежденные клетки и вызывает превращение хлорофилла в феофитин, который имеет бурую окраску. У растений с кислым клеточным соком появление феофитина может происходить и без действия соляной кислоты.

Определить процент повреждения листьев у растений после прогрева и действия соляной кислоты. Изобразить графически процент поврежденности листьев разных видов растений в зависимости от температуры нагрева.



## Работа 23

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАСУХО- И ГАЗОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПО ВОДОУДЕРЖИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ (ПО НИЧИПОРОВИЧУ) И ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ УСТЬИЧНОГО АППАРАТА ЛИСТЬЕВ (ПО НИКОЛАЕВСКОМУ)**

Различающиеся по засухо- и газоустойчивости растения с неодинаковой скоростью реагируют на действие этих неблагоприятных факторов. У устойчивых видов под влиянием засухи и действия промышленных газов быстрее и более плотно закрываются устьица (уменьшается апертура устьиц), а у неустойчивых видов – медленнее и в меньшей мере. Это приводит к большей потере воды срезанными листьями у неустойчивых видов. А. А. Ничипорович (1926) обнаружил, что скорость потери воды срезанными листьями прямо пропорциональна засухоустойчивости видов. Позднее В. С. Николаевский (1977) доказал, что разная водоудерживающая способность листьев растений зависит от изменения апертуры устьиц у этих видов, а не от водоудерживающей способности коллоидов протоплазмы. Поэтому различающиеся по засухо- и газоустойчивости виды растений отличаются разной экологической пластичностью устьичного аппарата, которую можно определить двумя методами: по скорости потери воды срезанными листьями и по инфильтрации жидкостей через устьица по методу Молиша.

**Материалы и оборудование:** 1 – виды растений, различающиеся по засухо- и газоустойчивости; 2 – торсионные весы; 3 – ножницы; 4 – капельницы с пипеткой, содержащие спирт, бензол и ксилол.

**Ход работы.**

**1-й метод.** Срезать листья растений различных по устойчивости видов и быстро определить вес каждого листа на торсионных весах. Разложить листья на столе. Повторить взвешивание через 1, 2, 4 и 24 ч. Рассчитать скорость потери воды на 1 г сырого веса листа (первое взвешивание) за указанные интервалы. Все измерения проводить в 3-5-кратной повторности с вычислением средних величин. По полученным данным построить графики потери воды 1 г листьев у разных по устойчивости видов растений.

**2-й метод.** Срезать листья различных по устойчивости видов растений и разложить их на столе. Определить апертуру устьиц до и после срезания через 1, 2, 4 и 24 ч. Для этого на нижнюю сторону исследуемых листьев помещают поочередно по 1 капле спирта, бензола и ксилола. Проникновение спирта в межклетники означает, что устьица полностью открыты (балл 3). Если спирт не проникает, а проникает бензол, то устьица полуоткрыты (балл 2). Если в межклетники проникает только ксилол, то устьица почти закрыты (балл 1). Если же и ксилол не проникает внутрь листа, то это означает, что устьица полностью закрыты (балл 0). Если одна жидкость проникает плохо,

а вторая очень хорошо, то апертуру устьиц можно оценивать дробной величиной.

По результатам исследований построить графики и сделать выводы об устойчивости разных видов растений.

## Работа 24

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГАЗОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПО ПОВРЕЖДАЕМОСТИ ЛИСТЬЕВ ГАЗОМ

Газоустойчивость растений принято определять по величине некрозов на листьях или проценту их поврежденности. В этом случае необходима идентичность экологических, почвенных и гидрологических условий произрастания растений и дозы воздействия газов (концентрация · время). Газоустойчивость растений можно определять как в природных фитоценозах, подверженных действию промышленных выбросов, так и в лабораторных условиях в специальных газовых камерах на срезанных ветвях. В последнем случае можно использовать более высокие расчетные концентрации газов для получения четких различий в газоустойчивости между породами.

**Материалы и оборудование.** 1 — полиэтиленовые камеры объемом 0,062 и 0,125 м<sup>3</sup>; 2 — безводный Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>; 3 — концентрированная H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 4 — 25 %-ный аммиак; 5 — конические колбы на 0,5 л; 6 — скрепки; 7 — стеклянные бюксы, чашки Петри, фильтры круглые, пипетки.

**Ход работы.** В полиэтиленовую камеру ставят ветви исследуемых растений в колбе с водой. Необходимо взять по 3–5 ветвей или побегов растений разных видов. В камеру с растениями помещают бюкс с Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. Щель камеры зашпиливают скрепками. Через отверстие пипеткой вносят избыточное количество H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. В результате реакции образуется сернистый газ. Время газации 20–30 минут. Концентрация SO<sub>2</sub> в камере создается от 200 до 900 мг/м<sup>3</sup> в зависимости от количества листовой массы, освещенности и температуры. Концентрацию газа в камере любого объема можно рассчитать по уравнению реакции:



Для определения устойчивости растений к аммиаку в камеру с растениями пипеткой вносится 1–4 мл 12 %-ного водного раствора аммиака. Время газации 20–30 минут.

После газации в обоих случаях растения в колбах выдерживаются 24 ч при максимально возможной освещенности (у окна, под сильными источни-

ками света). После этого определяется поврежденность листьев в процентах площади некрозов от общей поверхности листа. По показателям средней поврежденности видов распределяют растения на устойчивые (0–20% некрозов), среднеустойчивые (21–50%) и неустойчивые (51–100%).

## Работа 25

### ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ АУКСИНА НА АКТИВНОСТЬ ЛАТЕРАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ В СТВОЛЕ ДЕРЕВА

Ширина годичного кольца и соответственно прирост дерева по диаметру зависит от частоты деления клеток латеральной меристемы (камбия). Увеличение концентрации ауксина стимулирует активность латеральной меристемы. Основная масса ауксина в растении синтезируется в верхушечных почках побегов, поэтому по высоте ствола наблюдается градиент концентрации ауксина, что и находит выражение в разной активности латеральной меристемы.

**Материалы и оборудование:** 1. Отшлифованные спилы, отобранные с модельных деревьев ели на разной высоте ствола; 2. Препаровальные иглы; 3. Штангенциркуль; 4. Линейка.

**Ход работы.** Провести измерения ширины годичного кольца за последние пять лет по четырем направлениям. Данные измерений занести в таблицу.

Таблица 10

Высота отбора спила, м	Прирост за пять лет по 1 направлению, мм	Прирост за пять лет по 2 направлению, мм	Прирост за пять лет по 3 направлению, мм	Прирост за пять лет по 4 направлению, мм	Прирост за пять лет на заданной высоте ствола, мм

Построить график изменения ширины годичного кольца по высоте ствола. Отметить на графике точку расположения первого живого сука, известную для каждого модельного дерева.

## Работа 26

ВЛИЯНИЕ МЕТЕОУСЛОВИЙ НА ФОРМИРОВАНИЕ УРОЖАЯ ДРЕВЕ-  
СИНЫ

Количество древесины, откладываемой деревом в течении вегетационного сезона варьирует от года к году. Прежде всего это связано с вариацией метеоусловий от года к году. Судить о благоприятности метеоусловий для формирования урожая древесины можно на основе временных рядов радиального прироста.

**Материалы и оборудование:** 1. Отшлифованные спилы, отобранные с модельных деревьев ели на разной высоте ствола; 2. Микроскоп бинокулярный стереоскопический МБС-10; 3. Мел; 4. Вода; 5. Графики изменчивости основных метеопараметров в данном регионе.

**Ход работы.** С помощью МБС-10 ведутся измерения ширины годовых колец начиная от ближайшего к коре слоя, год формирования которого известен (год отбора спила). Перед проведением измерений поверхность древесины смачивается водой, зачищается лезвием бритвы, натирается порошком мела. Измерения ведутся с точностью до 0,1мм. Затем для каждого года рассчитывается средняя ширина годового кольца по четырем направлениям. Строятся графики изменчивости ширины годового кольца по годам.

На графике изменчивости метеопараметров выделяются реперные годы, с экстремальными значениями метеопараметров (засухи, периоды обильного увлажнения, суровые зимы, мягкие зимы и др.). Отмечается реакция прироста на данные условия и делается вывод о влиянии их на формирование урожая древесины.

На графике измерения ширины годового кольца отмечается возрастной тренд, связанный с изменением высоты ствола и концентрацией ауксина в данной точке. Выделяются локальные максимумы прироста, и при сопоставлении с графиками метеопараметров, делается вывод о погодных условиях, благоприятных для формирования урожая древесины у ели.

Рефрактометрические показатели концентрации и осмотическое давление растворов сахарозы

Показатель шкалы рефрактометра	Концентрации		Осмотическое давление в А	Показатель шкалы рефрактометра	Концентрации		Осмотическое давление в А
	%	Г/М			%	Г/М	
1	2	3	4	5	6	7	8
1,3365	2,41	0,071	1,88	1,3397	4,61	0,138	3,64
1,3366	2,51	0,074	1,97	1,3398	4,70	0,140	3,72
1,3367	2,58	0,076	2,02	1,3399	4,75	0,141	3,76
1,3368	2,65	0,078	2,06	1,3400	4,80	0,143	3,80
1,3369	2,72	0,080	2,11	1,3401	4,91	0,146	3,88
1,3370	2,80	0,082	2,18	1,3402	4,95	0,147	3,91
1,3371	2,85	0,084	2,23	1,3403	5,01	0,149	3,95
1,3372	2,95	0,087	2,31	1,3404	5,11	0,152	4,03
1,3373	3,00	0,088	2,34	1,3405	5,16	0,154	4,07
1,3374	3,05	0,090	2,37	1,3406	5,21	0,156	4,11
1,3375	3,10	0,091	2,42	1,3407	5,31	0,158	4,19
1,3376	3,19	0,094	2,49	1,3408	5,36	0,159	4,23
1,3377	3,29	0,097	2,57	1,3409	5,41	0,161	4,27
1,3378	3,35	0,098	2,62	1,3410	5,47	0,163	4,32
1,3379	3,40	0,100	2,65	1,3411	5,54	0,165	4,38
1,3380	3,45	0,101	2,70	1,3412	5,61	0,167	4,43
1,3381	3,50	0,103	2,73	1,3413	5,67	0,169	4,48
1,3382	3,60	0,106	2,81	1,3414	5,73	0,171	4,54
1,3383	3,67	0,108	2,87	1,3415	5,80	0,173	4,59
1,3384	3,70	0,109	2,89	1,3416	5,87	0,175	4,64
1,3385	3,80	0,113	3,00	1,3417	5,93	0,177	4,70
1,3386	3,86	0,115	3,04	1,3418	5,99	0,179	4,74
1,3387	3,91	0,116	3,08	1,3419	6,06	0,181	4,79
1,3388	4,00	0,119	3,16	1,3420	6,12	0,183	4,85
1,3389	4,06	0,121	3,20	1,3421	6,19	0,185	4,89
1,3390	4,11	0,122	3,24	1,3422	6,26	0,187	4,94
1,3391	4,21	0,125	3,33	1,3423	6,32	0,189	5,00
1,3392	4,31	0,128	3,41	1,3424	6,39	0,191	5,04
1,3393	4,34	0,129	3,44	1,3425	6,48	0,194	5,12
1,3394	4,41	0,131	3,49	1,3426	6,55	0,196	5,17
1,3395	4,51	0,134	3,57	1,3427	6,61	0,198	5,22
1,3396	4,56	0,136	3,61	1,3428	6,68	0,200	5,27

1	2	3	4	5	6	7	8
1,3429	6,74	0,202	5,32	1,3464	9,06	0,274	7,39
1,3430	6,81	0,204	5,38	1,3465	9,12	0,276	7,45
1,3431	6,91	0,207	5,48	1,3466	9,19	0,278	7,50
1,3432	6,97	0,209	5,54	1,3467	9,25	0,280	7,55
1,3433	7,04	0,211	5,59	1,3468	9,31	0,282	7,61
1,3434	7,10	0,213	5,64	1,3469	9,37	0,284	7,67
1,3435	7,17	0,215	5,70	1,3470	9,44	0,286	7,72
1,3436	7,24	0,217	5,75	1,3471	9,51	0,288	7,78
1,3437	7,30	0,219	5,80	1,3472	9,57	0,290	7,84
1,3438	7,37	0,221	5,86	1,3473	9,63	0,292	7,90
1,3439	7,43	0,223	5,91	1,3474	9,69	0,294	7,97
1,3440	7,50	0,225	5,96	1,3475	9,79	0,297	8,06
1,3441	7,56	0,227	6,020	1,3476	9,85	0,299	8,12
1,3442	7,63	0,229	6,07	1,3477	9,91	0,301	8,17
1,3443	7,70	0,231	6,13	1,3478	9,97	0,303	8,23
1,3444	7,76	0,233	6,19	1,3479	10,03	0,305	8,29
1,3445	7,83	0,235	6,25	1,3480	10,10	0,307	8,34
1,3446	7,89	0,237	6,33	1,3481	10,19	0,309	8,40
1,3447	7,95	0,239	6,38	1,3482	10,25	0,311	8,45
1,3448	8,02	0,241	6,44	1,3483	10,31	0,313	8,51
1,3449	8,08	0,243	6,50	1,3484	10,37	0,315	8,57
1,3450	8,15	0,245	6,55	1,3485	10,44	0,317	8,63
1,3451	8,21	0,247	6,61	1,3486	10,50	0,319	8,69
1,3452	8,27	0,249	6,66	1,3487	10,56	0,321	8,75
1,3453	8,34	0,251	6,71	1,3488	10,62	0,323	8,82
1,3454	8,40	0,253	6,77	1,3489	10,68	0,325	8,88
1,3455	8,47	0,255	6,83	1,3490	10,75	0,327	8,94
1,3456	8,53	0,257	6,88	1,3491	10,81	0,329	9,00
1,3457	8,59	0,259	6,94	1,3492	10,87	0,331	9,06
1,3458	8,66	0,261	6,99	1,3493	10,93	0,333	9,12
1,3459	8,75	0,264	7,09	1,3494	10,99	0,335	9,18
1,3460	8,81	0,266	7,09	1,3494	10,99	0,335	9,18
1,3461	8,88	0,268	7,22	1,3496	11,15	0,340	9,32
1,3462	8,94	0,270	7,28	1,3497	11,21	0,342	9,38
1,3463	9,00	0,272	7,33	1,3498	11,27	0,344	9,44

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие.....	3
Рабочая программа.....	4
Контрольные вопросы.....	9
Лабораторные работы.....	11
Работа 1. Клетка как осмотическая система. Плазмолиз и деплазмолиз.....	11
Работа 2. Наблюдение временного плазмолиза.....	13
Работа 3. Различные формы плазмолиза.....	13
Работа 4. Определение осмотического давления клеточного сока методом плазмолиза.....	14
Работа 5. Определение концентрации и осмотического давления клеточного сока рефрактометрическим методом.....	15
Работа 6. Определение сосущей силы растительных клеток при помощи рефрактометра.....	16
Работа 7. Определение интенсивности транспирации и потери водного запаса у срезанных листьев при помощи торсионных весов.....	17
Работа 8. Определение водоудерживающей способности растений методом завядания.....	18
Работа 9. Наблюдение за движением устьиц	19
Работа 10. Химические свойства пигментов листа.....	19
Работа 11. Физические свойства пигментов.....	22
Работа 12. Спектрофотометрический метод определения содержания пигментов в листьях растений.....	23
Работа 13. Спектрофотометрический метод определения содержания углерода в листьях мокрым сжиганием.....	25
Работа 14. Накопление первичного (ассимиляционного) крахмала в клетках листьев $C_3$ - и $C_4$ -растений.....	27
Работа 15. Определение активности пероксидазы по А.Н. Бояркину.....	28
Работа 16. Определение дыхательного коэффициента...	30

Работа 17. Определение количественного содержания золя в различных частях древесного расте-	32
ния.....	
Работа 18. Микрохимический анализ зо-	33
лы.....	
Работа 19. Диагностика потребности растений в азоте и фосфоре.....	34
Работа 20. Определение зимостойкости древесных растений по П.А.Генкелю и Е. З. Окниной.....	36
Работа 21. Выявление защитного действия сахаров на протоплазму.....	38
Работа 22. Определение жароустойчивости растений по Мацкову.....	39
Работа 23. Определение засухо- и газоустойчивости растений по водоудерживающей способности (по Ничипоровичу) и экологической пластичности устьичного аппарата листьев (по Николаевскому).....	40
Работа 24. Определение газоустойчивости растений по повреждаемости листьев га-	
зом.....	41
Работа 25. Влияние концентрации ауксина на активность латеральной меристемы в стволе дерева.....	42
Работа 26. Влияние метеоусловий на формирование урожая древесины.....	43
Приложение. Рефрактометрические показатели концентрации и осмотическое давление растворов сахарозы.....	45
Оглавление.....	46



*Учебное издание*

**Чернышенко Оксана Васильевна  
Писарева Светлана Дмитриевна  
Румянцев Денис Евгеньевич**

## **ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ**

*Под редакцией О. В. Чернышенко  
Компьютерный набор и верстка С. Д. Писаревой*

По тематическому плану внутривузовских изданий учебной литературы на 2007 г., доп.

Подписано в печать 06.07.2007. Формат 60×90 1/16. Бумага 80 г/м<sup>2</sup>  
Гарнитура «Таймс». Ризография. Усл. печ. л. 3,0.  
Тираж 170 экз. Заказ № 408.

Издательство Московского государственного университета леса. 141005,  
Мытищи-5, Московская обл., 1-я Институтская, 1, МГУЛ.  
E-mail: [izdat@mgul.ac.ru](mailto:izdat@mgul.ac.ru)

По вопросам приобретения литературы издательства ГОУ ВПО МГУЛ  
обращаться в отдел реализации.  
Телефон: (498) 687-37-14.