
ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

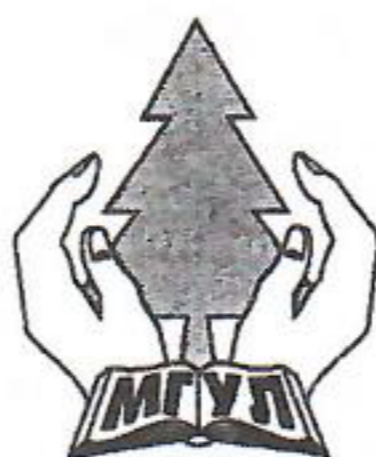


Учебно-методическое
пособие
к лабораторным
работам

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

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом
университета в качестве учебно-методического пособия
к лабораторным работам для студентов специальности 250203
Садово-парковое и ландшафтное строительство



Москва
Издательство Московского государственного университета леса
2007

УДК 581.1
Ф50

Разработано в соответствии с Государственным образовательным стандартом ВПО 2000 г. для направления подготовки 656200 на основе примерной программы дисциплины «Физиология растений»

Авторы: М. В. Щепашенко, О. В. Чернышенко, С. Д. Писарева, Д. Е. Румянцев

Рецензенты: кандидат сельскохозяйственных наук, доцент И. А. Вуколова;
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент
О. В. Кормилицына

Работа подготовлена на кафедре ботаники и физиологии растений

Физиология
Ф50 **растений : учеб.-методич. пособие. – М. : ГОУ ВПО МГУЛ, 2007. – 46 с.**

Учебно-методическое пособие включает рабочую программу дисциплины «Физиология растений», примерные вопросы для самоконтроля, а также предусмотренные программой лабораторные работы по всем разделам курса.

УДК 581.1

Учебное издание

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

*Редактор И. И. Кожемяко
Компьютерный набор и верстка авторов*

По тематическому плану внутривузовских изданий учебной литературы на 2007 г., поз. 262.

Подписано в печать 10.10.2007. Формат 60×90 1/16. Бумага 80 г/м².
Ризография. Усл. печ. л. 3,0. Тираж 250 экз. Заказ № 573.

Издательство Московского государственного университета леса. 141005, Мытищи-5,
Московская обл., 1-я Институтская, 1, МГУЛ.

E-mail: izdat@mgul.ac.ru

По вопросам приобретения литературы издательства ГОУ ВПО МГУЛ
обращаться в отдел реализации.

Телефон: (498) 687-37-14.

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

ПРЕДИСЛОВИЕ

Специалистам садово-паркового и ландшафтного строительства работающим преимущественно с растениями необходимо наличие знаний в области физиологии растений. Понимание закономерностей функционирования растительного организма – это один из основных компонентов их успешной практической деятельности. Роль физиологии растений все более повышается в современных экологических условиях.

Представленное учебно-методическое пособие отражает примерную рабочую программу курса физиологии растений, вопросы для самостоятельного контроля уровня усвоения учебного материала, содержит теоретические сведения по основным разделам физиологии растений, изучаемым в рамках практических занятий и методике выполнения лабораторных работ.

Каждая лабораторная работа выполняется двумя студентами, получающими один из вариантов. Конечные результаты по всем вариантам обобщаются в общей таблице и обсуждаются всеми студентами группы. Лабораторные работы 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 студенты пишут выводы, в которых излагаются конечные результаты и объясняются причины различия в интенсивности физиологических процессов.

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 хозяйства и ландшафтного строительства. Основные задачи и особенности физиологии растений на современном этапе.

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Растительная клетка как универсальная открытая биологическая система и элементарная структура организма. Характеристика физиологических функций и процессов в клетке. Описание морфологии клетки. Оболочка клетки, ее строение и функции. Строение, химический состав, свойства и роль цитоплазмы. Строение и функции органоидов клетки.

Химический состав клетки. Строение и функции белков, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов, витаминов и фитогормонов.

Ферменты и их роль в жизни клетки и растения. Строение ферментов и механизм катализа реакций. Влияние внешних и внутренних факторов на активность ферментов. Классификация ферментов

ВОДНЫЙ РЕЖИМ РАСТЕНИЙ

Растительная клетка как осмотическая система. Общие представления об осмосе и осмотическом давлении. Законы осмоса. Тургорное давление и сосущая сила, их природа и взаимосвязь. Плазмолиз и деплазмолиз. Методы определения осмотического давления и сосущей силы. Механизмы поглощения воды клеткой.

Общая характеристика водообмена растений и насаждений. Понятие о водном режиме, водном балансе и водном дефиците растений. Распределение воды по растению.

Вода как важнейший экологический фактор жизни растений. Структура и свойства воды. Группы растений по отношению к потребности в воде: гидрофиты, гигрофиты, мезофиты, ксерофиты.

Поглощение воды растением. Корневая система как орган поглощения воды. Механизм поглощения воды корнями растений. Состояние воды в почве и ее доступность для растений. Коэффициент завядания и мертвый запас воды.

Транспирация, ее значение в жизни растений. Влияние внешних и внутренних факторов на транспирацию растений. Показатели транспирации. Движущие силы и скорость водного тока. Регулирование водного режима растений. Антитранспиранты.

ФОТОСИНТЕЗ

Гетеротрофный и автотрофный (фоторедукция, фотосинтез, хемосинтез) типы питания. Сущность и значение фотосинтеза. Биосферная роль фотосинтеза. Фотосинтетический аппарат высших растений. Строение и состав хлоропластов. Классификация пигментов зеленого растения, их структура, функции и свойства. Биосинтез хлорофилла.

Механизмы фотосинтеза. Световые и темновые реакции фотосинтеза. Фотосинтетическое фосфорилирование, механизм образования АТФ. Химизм фотосинтеза: C_3 – и C_4 – растения, САМ – растения. Фотодыхание, его значение в метаболизме и энергетике растений.

Влияние внешних и внутренних факторов на интенсивность фотосинтеза. Светолюбие и теневыносливость растений.

Механизм эндогенной регуляции фотосинтеза растений по А.Т.Мокроносову. Суточный и вегетационный ход фотосинтеза. Фотосинтез и урожай. Листовой индекс, фотосинтетический потенциал. Методы изучения фотосинтеза.

ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ

Физиологическая сущность и значение дыхания. Взаимосвязь дыхания и брожения, генетическая связь между ними по С.П.Костычеву. Связь дыхания с другими физиологическими процессами.

Электронно-транспортная цепь дыхания. Ферменты дыхания. Химизм и энергетика дыхания и брожения. Окислительное фосфорилирование, теория Митчелла. Гликолиз и цикл Кребса. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы.

Дыхательный коэффициент как характеристика химизма дыхания. Регуляция дыхания растений. Зависимость дыхания от внешних и внутренних факторов. Дыхательный газообмен дерева и его отдельных органов. Роль дыхания в физиологических процессах и в адаптации дерева к неблагоприятным условиям среды. Методы изучения дыхания растений.

ОСНОВЫ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ

Значение почвенных микроорганизмов в жизни растений. Основные группы микроорганизмов. Участие микроорганизмов в биологическом круговороте углерода, азота и серы.

Общие представления о минеральном питании растений. Необходимые макро- и микроэлементы для растений, их физиологическая роль. Поглощение и распределение элементов по растению и его органам.

Механизм поглощения минеральных элементов и их использование растением. Роль корневых систем растений в жизнедеятельности, синтезирующая деятельность корневых систем. Влияние внешних и внутренних

условий на минеральное питание растений. Плодородие почв и факторы его определяющие. Корневые выделения растений и растворяющая способность корней. Аллелопатия. Антагонизм ионов и токсичность солей. Уравновешенные растворы. Физиологические основы применения удобрений. Признаки минеральной недостаточности. Диагностика потребности растений в элементах питания. Регулирование минерального питания в лесном хозяйстве и ландшафтном строительстве.

ПРЕВРАЩЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В РАСТЕНИЯХ

Биохимический состав древесных растений. Первичный и вторичный синтез веществ. Конституционные, запасные, энергетические, транспортные и защитные вещества. Живица, фитонциды. Физиологически активные соединения, фитогормоны. Физиологическая роль и значение активных соединений. Превращение веществ при прорастании и созревании семян и плодов.

РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ

Понятие о росте и развитии растений, основные закономерности этих процессов. Онтогенез и филогенез. Основные этапы индивидуального развития растений. Жизненный цикл высших растений. Фенологические фазы. Внутренние и внешние факторы развития растений.

Фотопериодизм и термопериодизм в регуляции цветения и плодоношения растений. Гормональная теория цветения растений М.Х. Чайлахяна. Ростовые движения растений. Тропизмы, настии и таксисы.

Регуляторы роста и их классификация. Фитогормоны (активаторы и ингибиторы роста). Роль и механизм действия фитогормонов в растениях. Практическое использование фитогормонов и активных соединений в сельском, лесном хозяйстве и в ландшафтном строительстве.

Периодичность роста и покоя у древесных растений. Механизмы покоя у семян и почек древесных растений. Методы преодоления покоя и ускорения прорастания семян. Химические средства и методы регуляции роста и покоя растений.

УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ УСЛОВИЯМ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Физиологические основы устойчивости растений к неблагоприятным факторам. Классификация факторов, воздействующих на жизнь растений. Наследственная (генетическая) и ненаследственная (фенотипическая) устойчивость растений.

Действие на растения низких отрицательных и положительных температур. Зимостойкость, морозоустойчивость и устойчивость к заморозкам. Холодоустойчивость растений. Физиологические причины повреждения теплолюбивых растений при низких положительных температурах.

Засухо- и жароустойчивость. Действие на растения высоких температур и недостатка влаги. Пути приспособления растений к засухе. Методы повышения засухоустойчивости растений. Влияние избытка воды в почве на растения. Механизмы устойчивости растений к анаэробно-биозу.

Засоление почвы и механизмы повреждения солями растений. Классификация галофитов. Солеустойчивость древесных растений. Методы снижения содержания солей в почвах и повышения солеустойчивости растений.

Действие ионизирующих излучений на растения. Механизмы повреждения и радиоустойчивости растений. Радиоустойчивость древесных растений. Устойчивость растений к патогенным микроорганизмам. Механизмы повреждения и устойчивости растений к патогенам. Физиологические основы иммунитета растений.

РАСТЕНИЕ В ГОРОДЕ

Характеристика изменения природных условий в городе и их влияние на жизнь растений. Основные лимитирующие факторы для роста и развития зеленых насаждений в городе. Особенности основных физиологических процессов растения в городской среде. Механизмы повреждения растений промышленными газами и тяжелыми металлами. Теории газоустойчивости растений Г.М. Илькуна, Ю.З. Кулагина, В.С. Николаевского. Санитарно-гигиенические функции зеленых насаждений в городе. Чувствительность видов растений и газоустойчивость. Физиологические основы подбора ассортимента растений для озеленения городов и промышленных предприятий.

ПРИМЕРНЫЕ ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Предмет и задачи физиологии растений. Методы исследований.
2. Строение растительной клетки. Органоиды, их строение, функции.
3. Цитоплазма, ее свойства.
4. Строение и функции биологических мембран.
5. Хлоропласты, их строение и функции.
6. Биохимический состав клетки: углеводы, их классификация, функции.
7. Биохимический состав клетки: липиды, их строение, функции.
8. Биохимический состав клетки: белки, их строение, функции.
9. Биохимический состав клетки: нуклеиновые кислоты, их строение, функции.
10. Поглощение и выделение веществ клеткой.
11. Природа процессов диффузии и осмоса. Плазмолиз и деплазмолиз.
12. Сосущая сила, осмотическое и тургорное давление.
13. Значение воды для жизни растений.
14. Передвижение воды по растению. Движущие силы водного тока.
15. Корневая система как орган поглощения воды. Корневое давление.
16. Транспирация, ее значение для жизни растений.
17. Внешние и внутренние факторы, влияющие на транспирацию.
18. Показатели транспирации древесных растений. Формула Дальтона.
19. Методы определения транспирации древесных растений.
20. Методы диагностики обеспеченности водой древесных растений.
Антитранспиранты.
21. Характеристика различных групп растений по отношению к водному режиму.
22. Водный режим почвы и его влияние на водный режим растений.
23. Водный баланс и водный дефицит.
24. Биосферная роль фотосинтеза.
25. Законы фотохимии для фотосинтеза.
26. Классификация пигментов, их строение.
27. Физические и химические свойства хлорофилла.
28. Доказательства существования световой и темновой фаз фотосинтеза.
29. Световые и темновые реакции фотосинтеза.
30. C_3 - путь фотосинтеза.
31. Фотодыхание древесных растений.
32. C_4 - путь фотосинтеза.
33. Особенности метаболизма САМ-растений.
34. Хемиосмотическая теория П.Митчела.
35. Влияние внешних и внутренних факторов на интенсивность фотосинтеза.
36. Фотосинтез и урожай.

37. Показатели фотосинтеза. КПД фотосинтеза.
38. Циклическое фотофосфорилирование.
39. Нециклическое фотофосфорилирование.
40. Эндогенная регуляция фотосинтеза.
41. Методы изучения фотосинтеза и дыхания.
42. Физиологические различия между светолюбивыми и теневыносливыми растениями.
43. Значение дыхания древесных растений.
44. Газообмен при дыхании. Дыхательный коэффициент. Субстраты дыхания.
45. Механизмы окислительных процессов. Теории А.Баха и А.Палладина
46. Гликолиз.
47. Цикл Кребса.
48. Окислительное фосфорилирование.
49. Взаимосвязь дыхания и брожения (теория Костычева).
50. Эффект Л.Пастера.
51. Пентозофосфатный путь дыхания.
52. Промежуточные продукты дыхания.
53. Ферменты дыхания.
54. Влияние внешних и внутренних факторов на дыхание.
55. Интенсивность дыхания различных частей дерева.
56. Классификация ферментов. Их строение и функции.
57. Некоторые положения теории катализа.
58. Классификация минеральных элементов в растениях.
59. Физиологическая роль азота в растении, круговорот азота в природе.
60. Физиологическая роль фосфора и калия в растении.
61. Физиологическая роль кальция, магния, железа.
62. Антагонизм, синергизм и уравновешенность ионов.
63. Регулирование минерального питания растений и методы диагностики.
64. Механизм поглощения минеральных элементов.
65. Почвоутомление и аллелопатия.
66. Влияние тяжелых металлов на растения.
67. Рост и развитие древесных растений.
68. Физиологические основы покоя семян и почек.
69. Ритмы роста древесных растений. Роль фитохрома.
70. Фитогормоны древесных растений.
71. Фотопериодизм древесных растений.
72. Термопериодизм древесных растений
73. Регуляция развития растений на уровне клетки
74. Регуляция развития растений на тканевом уровне
75. Организменный уровень регуляции развития растений
76. Гормональная теория цветения М.Х.Чайлахяна.
77. Движения растений: тропизмы, настии, таксисы.

78. Жароустойчивость древесных растений.
79. Засухоустойчивость древесных растений.
80. Холодоустойчивость древесных растений.
81. Солеустойчивость древесных растений.
82. Зимостойкость древесных растений.
83. Морозоустойчивость древесных растений.
84. Газоустойчивость древесных растений.
85. Фитоиммунитет древесных растений.
86. Защитные вещества древесных растений.
87. Биохимический состав древесных растений.
88. Растение в городе.
89. Передвижение минеральных элементов по растению.
90. Передвижение органических веществ по растению.

ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

Работа 1

КЛЕТКА КАК ОСМОТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

Поглощение воды из внешней среды – это обязательное условие существования любого живого организмов. Основным способом поступления воды в живые клетки растения является ее осмотическое поглощение. *Осмозом* называется проникновение растворителя в раствор, отделенный от него полупроницаемой мембраной. Полупроницаемая мембрана обладает способностью пропускать воду, газ и растворенные в воде вещества с разной скоростью.

Растительная клетка окружена клеточной стенкой, которая обладает определенной эластичностью и может растягиваться. Вакуоль содержит большое количество осмотически активных веществ (органических кислот, сахаров, солей). Поскольку клеточная мембрана избирательно проницаема и вода проходит через нее гораздо легче, чем вещества, растворенные в цитоплазме, при помещении клетки в воду эта вода по законам осмоса будет поступать внутрь клетки. Сила, с которой вода входит в клетку, называется *сосущей силой*. Она определяется разностью между осмотическим и тургорным давлением.

При помещении клетки в раствор, концентрация которого выше, чем концентрация клеточного сока, происходит отток воды из клетки. Это приводит к уменьшению объема клеточного содержимого и отставанию цитоплазмы от стенки клетки. Это явление называется *плазмолизом*. Пространство между клеточной стенкой и сократившимся протопластом заполняет наружный раствор.

Если плазмолизированную клетку поместить в воду или раствор с меньшей концентрацией, то произойдет *деплазмолиз* – возвращение цитоплазмы в исходное состояние.

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

Ход работы. Приготовить с помощью бритвы тонкие срезы окрашенного антоцианом нижнего эпидермиса лука. Положить срез на предметное стекло и капнуть на него 1 N раствор азотнокислого калия. Срез закрыть покровным стеклом. Наблюдать в микроскоп постепенное отставание протоплазмы от стенок клетки вследствие выхода из клеток воды. Сначала наблюдается отставание цитоплазмы в уголках клеток (уголковый плазмолиз), а затем и от всей оболочки клеток (вогнутый и выпуклый плазмолиз). Зарисовать клетки с различными видами плазмолиза.

Затем рядом с покровным стеклом капнуть на предметное стекло несколько капель воды. Наблюдать обратный процесс проникновения воды в клетку – деплазмолиз.

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 (угловой 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

По степени концентрации различают растворы: изотонический, гипотонический и гипертонический. Раствор, имеющий осмотическое давление, равное осмотическому давлению клеточного сока, называется *изотоническим*. Раствор, осмотическое давление которого больше, чем осмо-

тическое давление клеточного сока, называется *гипертоническим*, а раствор с меньшим осмотическим давлением – *гипотоническим*. При действии на растительную клетку гипертонического раствора происходит плазмолиз.

Для определения осмотического давления клеточного сока методом плазмолиза в стеклянные чашечки или бюксы одинаковой формы наливают раствор плазмолитика определенной концентрации. Растворы располагают или по уменьшающейся, или по возрастающей концентрации. В них погружают срезы растительных тканей, которые затем через определенные промежутки времени рассматривают под микроскопом. Отыскивают изотонический раствор, концентрация которого соответствовала бы концентрации клеточного сока.

От осмотического давления клеточного сока сильно зависит такой показатель как *сосущая сила* клетки – сила с которой вода входит в клетку. Сосущая сила определяется как разность осмотического давления и тургорного. Если осмотическое давление выше тургорного, значит клетка будет набирать воду до тех пор пока не произойдет их выравнивание. Осмотическое давление тем выше, чем выше концентрация осмотически активных веществ внутри клетки. Тургорное давление – это давление жесткой клеточной стенки, препятствующее увеличению объема клетки. Понятно, что осмотическое давление варьирует во много раз сильнее чем тургорное, поэтому сосущая сила клетки в первую очередь определяется осмотическим давлением.

Материалы и оборудование. 1. Лук или красная капуста. 2. 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1 М растворы сахарозы. 3. Микроскопы. 4. Препаровальные иглы. 5. Бритвы или скальпели. 6. Часовые, предметные и покровные стекла.

Ход работы. Сделать тонкие срезы окрашенного эпидермиса лука или других растений с окрашенным клеточным соком. Срезы помещают на часовые стекла в растворы сахарозы концентрации 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 и 1 М на 20 мин. Срезы должны быть полностью погружены в раствор. После этого срезы помещают на предметные стекла, закрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. Для каждой концентрации сахарозы определяется степень плазмолиза.

Изотоническая концентрация находится между концентрацией, которая не вызывает плазмолиз, и концентрацией, которая вызывает слабый уголковый плазмолиз.

По изотонической концентрации вычисляется осмотическое давление клеточного сока двумя способами:

$$1. P = RTC_i,$$

где P – осмотическое давление, А;

R – газовая постоянная (0,0821 л А / град М);

T – абсолютная температура, К°;

C – изотоническая концентрация, М/л;
 i – изотонический коэффициент, характеризующий ионизацию раствора (для сахарозы $i = 1$).

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

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

Результаты опыта записывают в таблицу:

Т а б л и ц а 1

Концентрация раствора сахарозы, М	Степень плазмолиза	Изотоническая концентрация	Осмотическое давление	
			А	кПа
0,2	Нет	0,35	1.	
0,3	Нет			
0,4	Слабый		2.	
0,5	Средний			
0,6	Сильный			

Для перевода расчетов осмотического давления в килопаскали (кПа) данные в атмосферах умножают на 101,3 (1 А = 101,3 кПа).

Работа 5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ И ОСМОТИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СОКА РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Рефрактометрический метод позволяет быстро и точно определять концентрацию клеточного сока и осмотическое давление. Этот метод основан на учете показателя преломления света, проходящего через клеточный сок растения. Показатель преломления света зависит от концентрации исследуемого раствора. Однако у этого метода имеются некоторые ограничения для использования. Так как клеточный сок содержит не только сахара, но и другие соединения, преломление света может не совпадать с преломлением света раствором сахарозы. Поэтому таблица показателей осмотического давления будет наиболее точна для таких растений как сахарный тростник. Этим методом можно определять осмотическое давление только в пределах вида или сорта растения, но нельзя вести сравнительные исследования у большого набора видов.

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

Ход работы. При помощи ручного пресса приготовить сок из 2–3 листьев исследуемых растений, предварительно завернув их в марлю. Или измельченные листья растирают в ступке и отжимают сок через марлю.

С помощью зеркала рефрактометра добиваются хорошего освещения призмы. На нижнюю полупризму наносят пипеткой 3 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 вверх или вниз, добиваются совмещения линии раздела светлого и темного полей с тремя рисками в окуляре прибора. 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 (на странице) находят концентрацию клеточного сока и осмотическое давление в атмосферах.

Полученные результаты заносят в таблицу:

Т а б л и ц а 2

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

Для перевода расчетов осмотического давления в килопаскали (кПа) данные в атмосферах умножают на 101,3.

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. Стекланные 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 погруже-

ны 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 торсионные 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. Торсионные 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 торсионных 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 $P_3 - P_2$ 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-ти 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 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 торсионных 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 дм² 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 ² ·час	Влажность листьев, %	Интенсивность транспирации и потери воды, мг /г сух. веса·час
0	P ₁				
5	P ₂	P ₁ - P ₂			
5	P ₃	P ₂ - P ₃			
15	P ₄	P ₃ - P ₄			
15	P ₅	P ₄ - P ₅			

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. Торзионные 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

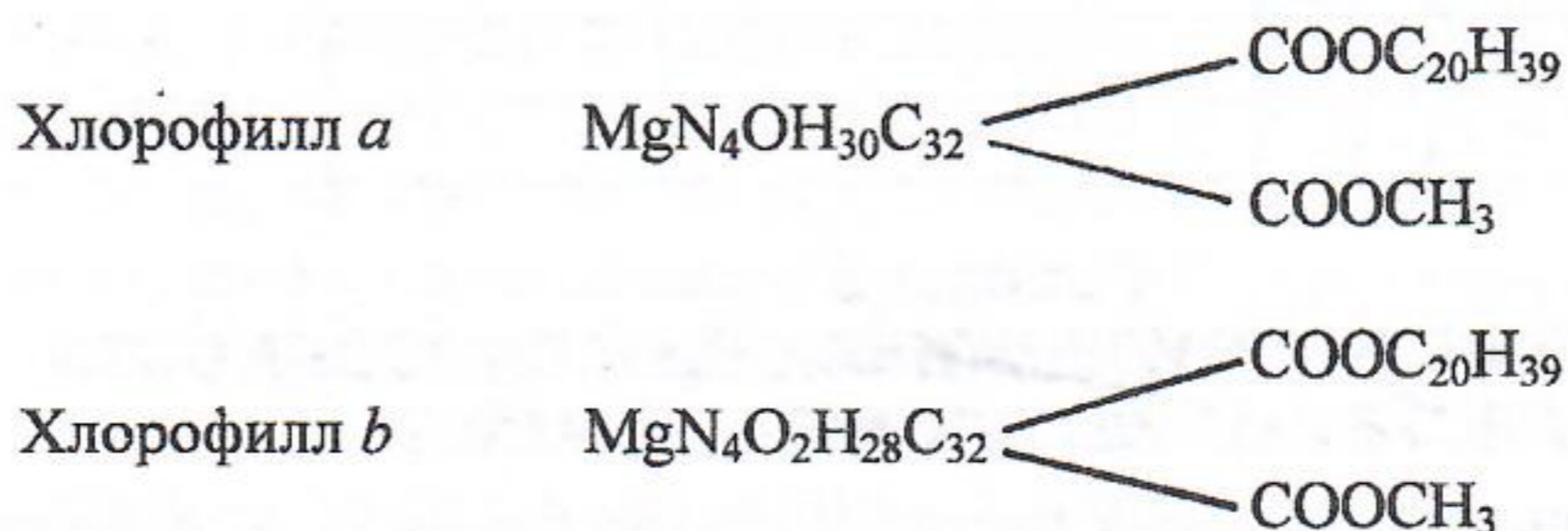
графике динамику относительной водоотдачи вида по средним показателям из трех повторностей. Сделать заключение о водоудерживающей способности растений.

Работа 9

ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ ЛИСТА

Пигментная система хлоропластов содержит пигменты двух типов – зеленые пигменты (хлорофилл *a* и *b*) и желтые пигменты (каротиноиды, представленные каротинами и ксантофиллами). Высшие растения и водоросли содержат в качестве основного пигмента хлорофилл *a*, в качестве дополнительных – хлорофилл *b* (высшие растения, зеленые водоросли), хлорофилл *c* (бурые и диатомовые водоросли), хлорофилл *d* (красные водоросли). Хлорофилл *a*, служит непосредственным донором энергии для фотосинтетических реакций, остальные пигменты лишь передают поглощенную ими энергию хлорофиллу *a*.

По химической природе хлорофиллы *a* и *b* – сложные эфиры дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов – метилового и одноатомного непредельного спирта фитола. Суммарную формулу хлорофиллов можно изобразить так:



Каротиноиды – жирорастворимые пигменты желтого, оранжевого и красного цвета – присутствуют в хлоропластах всех растений. Они также входят в состав хромопластов в незеленых частях растений, например, корнеплодах моркови. В зеленых листьях каротиноиды обычно незаметны из-за присутствия хлорофиллов.

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 %-ный раствор соляной кислоты. 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. Отфильтровать полученную вытяжку через складчатый фильтр или вату. Оставшуюся в ступке массу повторно растирают с небольшим количеством спирта и отфильтровывают в ту же пробирку.

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, благодаря чему происходит разделение пигментов в смеси.

Ход работы. В чистую пробирку налить 2 – 3 мл спиртовой вытяжки пигментов и добавить 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, окраска которого маскируется зелеными пигментами. 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 её.

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. Поэтому, в результате опыта мы наблюдаем зеленое окрашивание в спиртовом слое, в то время как верхний, бензиновый слой, имеет желтовато-оранжевую окраску, обусловленную присутствием каротина. В предыдущем опыте желтая окраска каротина маскировалась наличием в бензиновом слое хлорофиллов, но теперь, когда они превратились в хлорофиллиновые соли, плохо растворимые в бензине, она видна четко.

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 про-

бирки 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. Феофитин присутствует в растениях в незначительных количествах, выполняет важные функции в цепи переноса электронов. Потеря зеленой окраски листьев осенью связана с переходом с превращением хлорофилла в феофитин.

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 металлорганической 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.

Работа 10

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ

Среди физических свойств пигментов мы рассмотрим 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. С максимумами поглощения совпадает и интенсивность фотосинтеза. У хлорофилла *a* и *b* имеются два максимума поглощения света: в красной области соответственно 665 и 648 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 хлорофиллов более широкий и выравненный. Так, красный максимум хлорофилла *a* имеет несколь-

ко пиков поглощения: 670, 683 и 700 нм; у хлорофилла *b* 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 её 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. Так как время жизни ее на синглетном уровне очень мало, то электрон возвращается в исходное состояние (переходит на основную орбиту). При переходе "возбужденной" молекулы хлорофилла в обычное состояние энергия кванта может выделяться в виде флуоресценции, т.е. излучения кванта света с длиной волны большей, чем длина волны света возбуждавшего флуоресценцию. 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. Спиртовую вытяжку пигментов или раствор хлорофилла сначала рассматривают в проходящем свете, например, 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 11

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ

Хлорофилл и каротиноиды – важнейшие компоненты фотосинтетического аппарата листьев. Количественное их содержание в листьях зависит от вида растения, внешних условий и возраста листьев. Как правило, хлорофилла *b* в листьях приблизительно в 3 раза больше, чем каротиноидов. Хлорофилла *a* обычно в 2-3 раза больше, чем хлорофилла *b*. Отношение хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* может меняться у одного и того же растения. Например, осенью в листьях хлорофилл *a* разрушается быстрее хлорофилла *b*. Количество пигментов часто отражает и реакцию растения на условия произрастания. Поэтому при физиологических исследованиях часто возникает необходимость проследить за динамикой содержания пигментов в отдельных органах.

Концентрация 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. Торсионные весы, ножницы, вата, кюветы. 4. 80 %-ный ацетон или 80 %-ный раст-твор 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. Добавляют ещё 4 – 5 мл ацетона или спирта и полученную вытяжку фильтруют в пробирку через плотно вставленный в воронку ватный тампон. Ступку ополаскивают новыми порциями ацетона или спирта, которые без потерь сливают каждый раз в воронку. Общий объем использованного для одной пробы растворителя должен быть 30 мл. Фильтрат содержит смесь зеленых и желтых пигментов.

Концентрация хлорофилла *a* и *b* и суммы каротиноидов определяют к одной вытяжке. Измерение оптической плотности производят в следующем порядке.

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

Работа 12

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕРОДА В ЛИСТЬЯХ 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 содержанием 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: $M_{гг}$ - 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 $дм^2$, рассчитывают по формуле:

$$X = 0,4 \text{ Мгл} \cdot 100/S,$$

где S - площадь высечек в $см^2$.

Результаты опыта записывают в таблицу 5.

Т а б л и ц а 5

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

Работа 13 ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗЫ ПО А.Н. БОЯРКИНУ

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.

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.

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 пластмассовыми 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 $50 - 60^{\circ}C$ 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 "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 синееет 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 (при данных условиях – 4);

b – степень дополнительного разведения вытяжки (если это потребуется);

t – время изменения оптической плотности раствора, с;

d – толщина слоя жидкости в кювете, см.

Результаты измерений заносят в таблицу 6.

Т а б л и ц а 6

Вид	Количество жидкости (V)	Масса навески (m)	Время изме- рения (t)	Активность пероксидазы

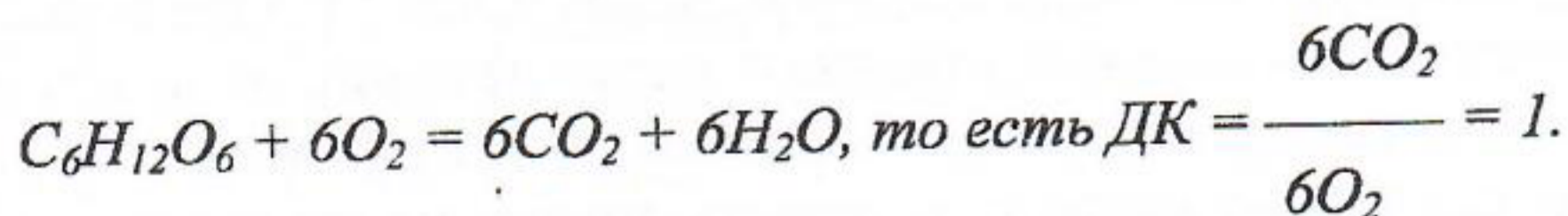
Сделать выводы об активности пероксидазы для различных растений.

Работа 14

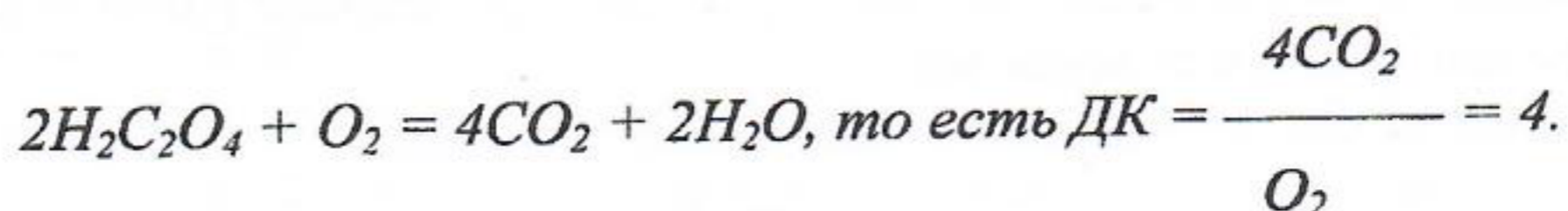
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЫХАТЕЛЬНОГО КОЭФФИЦИЕНТА

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.

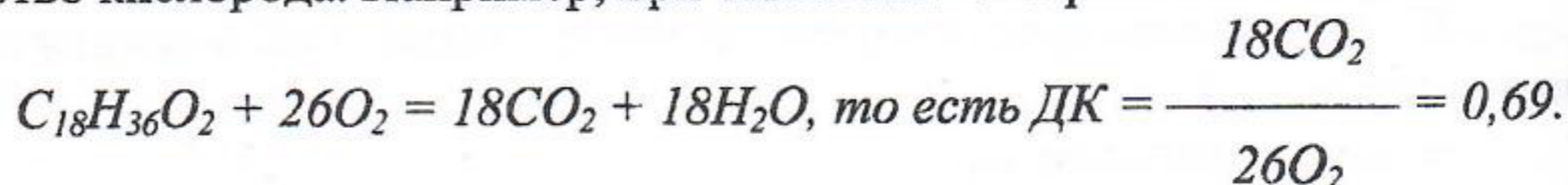
Если дыхательным субстратом служат углеводы, реакция идет по уравнению:



Если дыхательным субстратом служат органические кислоты (например, у суккулентов), 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:



Дыхательным субстратом называется органическое вещество, окисляющееся в процессе дыхания. В качестве основного субстрата дыхания растения используют углеводы, которые являются наиболее важными в энергетическом отношении соединениями. Если растение испытывает недостаток углеводов, то субстратами окисления могут быть белки и жиры, но лишь после их гидролиза.

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. Стекланные 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 ещё 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 (*A*) будет соответствовать разности объемов поглощенного кислорода и выделенного углекислого газа за данный промежуток времени. Отсчет в варианте со щелочью (*B*) выражает объем только поглощенного кислорода, так как выделенный углекислый газ поглощает щелочь.

Объем выделенного CO_2 находят по формуле:

$$B - A.$$

$$ДК = (B - A) : V.$$

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:

$$Ид = \frac{(B - A) \cdot 60}{M \cdot T} \text{ (мл } \text{CO}_2 / 1 \text{ г в ч);}$$

$$Ид = \frac{B \cdot 60}{M \cdot T} \text{ (мл } \text{O}_2 / 1 \text{ г в час),}$$

где: *Ид* – интенсивность дыхания;

M – вес семян, г;

T – интервал времени измерения, мин.

Результаты измерений занести в таблицу 7.

Таблица 7

Вид	Отсчет <i>A</i>	Отсчет <i>B</i>	<i>ДК</i>	Вес семян, г	<i>Ид</i> (мл $\text{CO}_2/1 \text{ г} \cdot \text{час}$)	<i>Ид</i> (мл $\text{O}_2/1 \text{ г} \cdot \text{час}$)

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

Работа 15

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ЗОЛЯ В РАЗЛИЧНЫХ ЧАСТЯХ ДРЕВЕСНОГО РАСТЕНИЯ

Растения способны поглощать из окружающей среды в большем или меньшем количестве практически все элементы периодической системы. Однако для нормальной жизнедеятельности растений необходима лишь определенная группа основных питательных элементов. Эти элементы делятся на органогены и зольные элементы. *Органогены* – это вещества, улетучивающиеся при сгорании (углерод, водород, кислород, азот). Они составляют в среднем 95 % сухой массы растения. *Зольные элементы* – это вещества, остающиеся после сгорания и составляющие около 5 % сухой массы (фосфор, сера, калий, кальций, магний, железо, натрий и др.)

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 (2 – 15 %) и мелкие всасывающие корни, относительно высокое содержание золы в коре деревьев и корнях. Несколько меньше – в стеблях травянистых растений и в семенах, а меньше всего в древесине (0,4 – 1 %), содержащей относительно мало живых клеток и состоящей преимущественно из углерода, водорода и кислорода. Масса золы неодинакова у различных видов деревьев и в различных условиях местообитания.

Материалы и оборудование. 1. Древесина, побеги, листья или почки, семена, хвоя различных растений. 2. Муфельная печь, тигли. 3. Торсионные весы. 4. Щипцы с изогнутым концом. 5. Вытяжной шкаф. 6. Эксикатор.

Ход работы. Взвесить материал для сжигания. Примерная навеска сжигаемого материала (M) – 1 г для листьев и побегов и 4 г для древесины. Весь взвешенный материал перенести 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 (A).

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

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 таблицу 8.

Т а б л и ц а 8

Вид растений	Содержание зольных веществ		
	Древесина	Побеги	Почки или хвоя

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

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

Работа 16

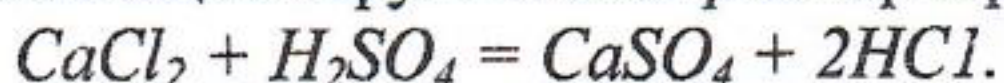
МИКРОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗОЛЫ

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. Микроскопы. 3. Пробирки, фильтровальная бумага, предметные стекла, воронки, стеклянные палочки. 4. 10%-ный раствор соляной кислоты, 1%-ный раствор Na_2HPO_4 , 1%-ная серная кислота, 10%-ный раствор аммиака, 1%-ный раствор желтой кровяной соли, 1%-ный раствор молибденовокислого аммония в 1%-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 с каплей реактива наносят каплю испытуемого раствора. Обе капли соединяют стеклянной палочкой, чтобы содержимое смешалось. Стекла подписывают и оставляют до тех пор, пока не подсохнут. При малом и большом увеличении микроскопа рассматривают образовавшиеся кристаллы зольных элементов.

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



В результате реакции выпадает осадок – игольчатые кристаллы гипса (рис. 1).

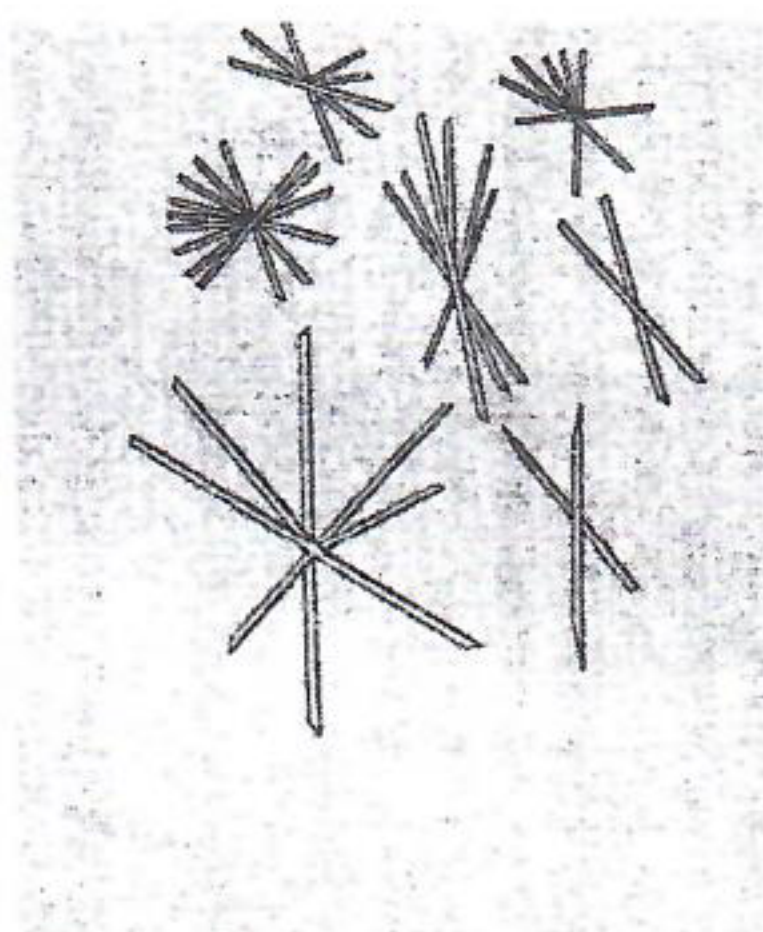


Рис. 1 Кристаллы гипса

2. Чтобы обнаружить магний, каплю испытуемого раствора сначала нейтрализуют аммиаком (в каплю испытуемого раствора вносят небольшую каплю аммиака), а затем добавляют одну каплю 1%-ного раствора кислого фосфорнокислого натрия. В результате смешивания выпадают характерные кристаллы фосфорноаммиачномагнезиальной соли (рис. 2):

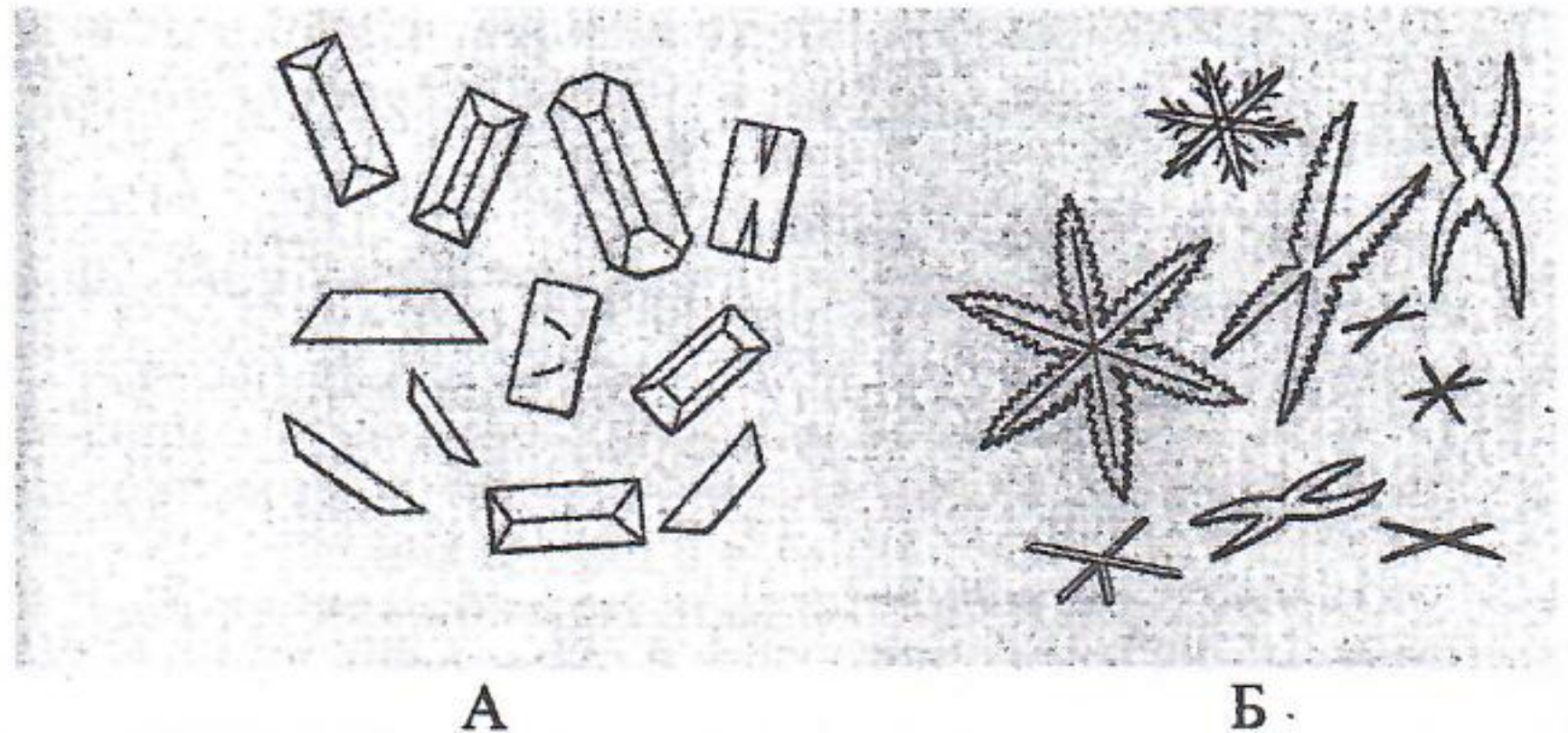
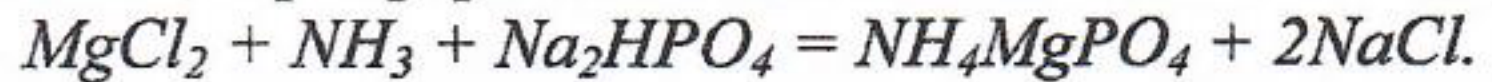


Рис.2 Кристаллы фосфата магния аммония, полученные:
А – при медленной, Б – при быстрой кристаллизации

3. 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 всё более интенсивную зеленую окраску (рис. 3):

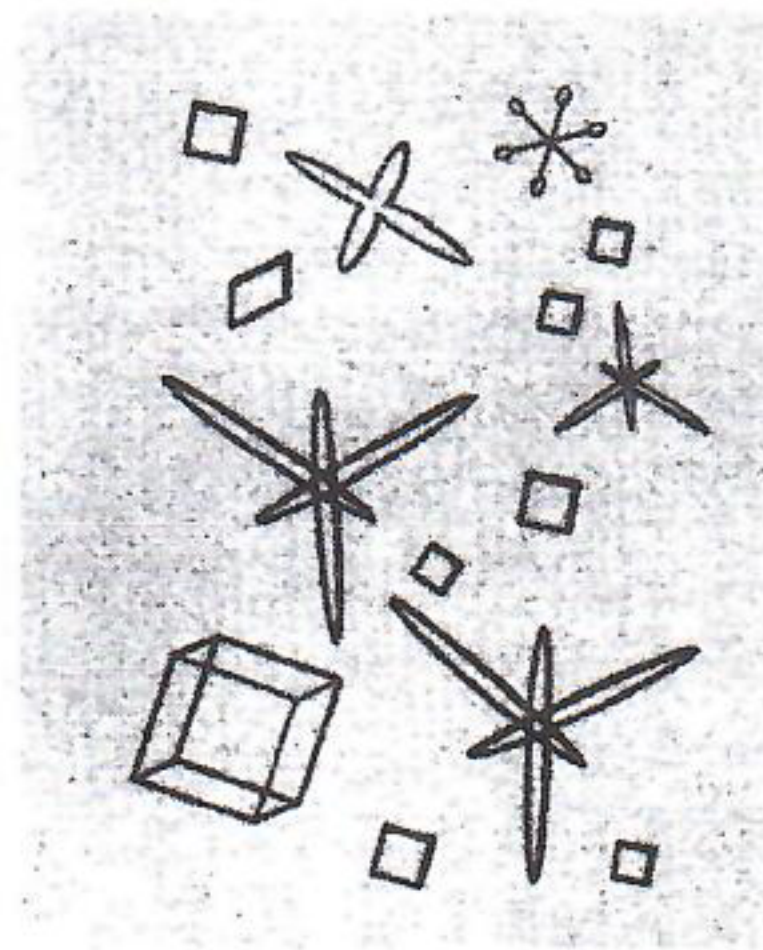
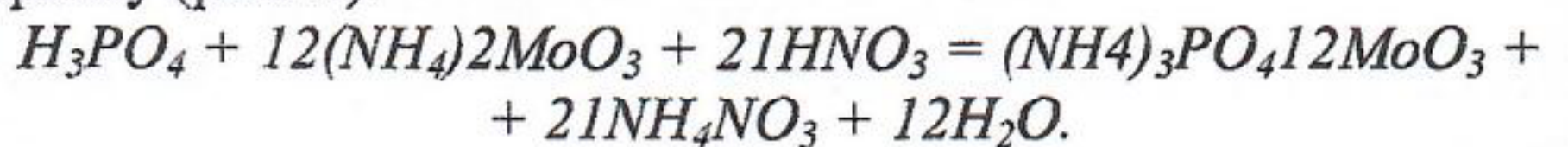
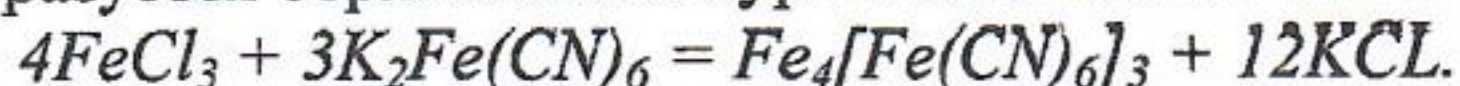


Рис. 3 Кристаллы фосфат-молибдата аммония

4. 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.

Работа 17 **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. Дифениламино-вый реактив. 3. Реактив Кирсанова. 4. Оловянные палочки. 5. Чашки Петри. 6. Стекланные палочки.

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

Приготовление реактива Кирсанова. Растворить при осторожном нагревании 1 г $(NH_4)_2MnO_4$ в 20 мл воды, охладить и добавить 20 мл HCl и 160 мл воды.

Ход работы. Для всех определений брать небольшие (с пшеничное зерно) кусочки черешков листьев. Раздавить их стеклнной палочкой, добавить 2–3 капли реактива на соответствующий ион и смешать его с соком, выдавленным из ткани. Для определения количества ионов NO_3^- используют раствор дифениламина в серной кислоте. Для открытия ионов 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. 9.

Т а б л и ц а 9

Вариант опыта	Концентрация нитрат-ионов	Концентрация фосфат-ионов	Выводы

Работа 18
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 покоя их тканей и клеток, при которой цитологически определяются: степени 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 сахар 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 α -нафтола. 6. Концентрированная H_2SO_4 . 7. Раствор Судана – III или Шарлаха. 8. 1М раствор сахарозы. 9. Раствор роданистого калия (9,7 г в 100 мл дистиллированной воды).

Ход работы.

1. Реакция на крахмал

Тонкие срезы почек древесных растений помещают в раствор Люголя на часовом стекле на 5 мин. Рассматривают 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 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 α -нафтола. Добавляют 1 – 2 капли концентрированной серной кислоты. Сахара окрашиваются в цвета от розового до темно-малинового. Оценивают количество сахаров в баллах.

3. Реакция на липиды

Тонкие срезы почек помещают на 5 мин. в раствор Судана–III или Шарлаха, затем переносят на предметное стекло в раствор глицерина и рассматривают под микроскопом. Липиды окрашиваются в ярко-красный или оранжевый цвет. Оценивают содержание липидов в баллах.

4. Характер плазмолиза клеток

О покое можно судить по форме плазмолиза, наблюдающегося в одномолярном растворе сахарозы. Срезы почек помещают на часовом стекле в каплю раствора 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 таблицу 10.

Т а б л и ц а 10

Вид растения	Содержание в баллах			Характер плазмолиза	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.

Работа 19 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. 11 и делают выводы.

Т а б л и ц а 11

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

Работа 20 **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°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 перено-

сят в кристаллизатор с холодной водой. Температуру воды в бане поднимают на 5°С и через 10 минут вынимают вторую партию листьев, которые также переносят в холодную воду.

Постепенно температуру воды доводят до +80°С, беря пробы через интервалы в 5°С. 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 21

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 22

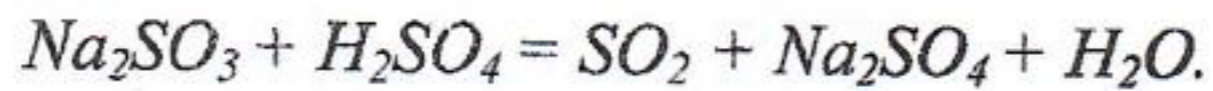
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГАЗОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПО ПОВРЕЖДАЕМОСТИ ЛИСТЬЕВ ГАЗОМ

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 м³; 2 – безводный Na₂SO₃; 3 – концентрированная H₂SO₄; 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 Na₂SO₃. Щель камеры зашлифовывают скрепками. Через отверстие пипеткой вносят избыточное количество H₂SO₄. В результате реакции образуется сернистый газ. Время газации 20-30 минут. Концентрация SO₂ в камере создается от 200 до 900 мг/м³ 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 источниками 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 23

СТИМУЛЯЦИЯ АУКСИНОМ ОБРАЗОВАНИЯ ПРИДАТОЧНЫХ КОРНЕЙ В ЧЕРЕНКАХ РАСТЕНИЙ

Ауксин (индолилуксусная кислота) является одним из основных гормонов высших растений и вызывает разнообразные физиологические эффекты: активизирует деление и растяжение клеток, обеспечивает апикальное доминирование, стимулирует образование боковых и придаточных корней. Синтез ауксина наиболее активно идет в апикальных меристемах побегов, молодых листьях, развивающихся плодах и затем он перемещается вниз по стеблю.

Материалы и оборудование: черенки традесканции, лезвие безопасной бритвы, сосуд с водой, сосуды с растворами ауксина разной концентрации.

Ход работы: Приготавливаются черенки традесканции, сеткреазии. Черенки нижними концами погружают в раствор ауксина или воду (контроль) на 6 часов. Затем их вынимают из растворов стимуляторов, основание черенков ополаскивают холодной водой, после чего гипокотиллями погружают в водопроводную воду, где и происходит укоренение. Основные учитываемые показатели физиологической активности ауксина: число и длина корней. Учет производится на седьмой день после постановки опыта. Результаты эксперимента заносятся в таблицу 12.

Т а б л и ц а 12

Вариант опыта	Среднее число корней на 1 черенке		Средняя длина корней	
	штук	% от контро-ля	мм	% от контро-ля
Вода		100%		100%
ИУК, конц 10мг/л				
ИУК, конц 50мг/л				
ИУК, конц 100мг/л				

Работа 24

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОДУКТОВ ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА В ТКАНЯХ РАСТЕНИЙ

К продуктам вторичного метаболизма принято относить различные вещества, не участвующие в первичном метаболизме, т.е. в таких процессах как дыхание, фотосинтез, синтез белков, нуклеиновых кислот и липидов. К продуктам вторичного метаболизма относятся такие группы веществ как терпены, кумарины, флавоноиды, таннины, алкалоиды и др.

Материалы и оборудование: чашки Петри, лезвие безопасной бритвы, 10% раствор HCl, 10% раствор NaOH, 10% раствор FeSO₄, листья молочая, сеткреазии, раствор чая.

1. Выявление флавоноидов.

Молекула флавоноида содержит два бензольных ядра и одно гетероциклическое кислородосодержащее кольцо. В зависимости от степени окисления трехуглеродного участка флавоноиды подразделяются на флавононы, дигидрофлавононы (антоцианы), флавоны, флавонолы и изофлавонолы. Из флавоноидов в клетке синтезируются танины.

Антоцианы являются основными красящими веществами растений, что позволяет им служить аттрактантами животных при опылении цветков и распространении плодов. Осенняя окраска листвы помимо кротиноидов (придающих ей желтые оттенки) обусловлена и присутствием антоцианов, придающих ей красноватые оттенки. Краснолистные формы растений отличаются повышенным содержанием антоциана. Окраска антоциана чувствительна к кислотности среды – подщелачивание среды придает антоциану синие оттенки, подкисление красные.

Ход работы. Содержащие антоциан кусочки растительной ткани помещаются в чашки Петри с дистиллированной водой, 10% раствором HCl и 10% раствором NaOH. На поверхность листа с помощью лезвия

бритвы наносятся порезы, облегчающие проникновение раствора в клетки растительной ткани. Посинение тканей помещенных в щелочь и покраснение тканей помещенных в кислоту свидетельствует о присутствии в тканях антоциана.

2. Выявление таннинов

Танины (дубильные вещества) представляют собой полимеры фенольной природы. Термин таннины впервые был использован для описания веществ, которые превращали сырые шкуры животных в кожу в процессе дубления. У человека таннины вызывают вяжущее ощущение во рту из-за их связывания с белками слюны, они содержатся в чае, кофе, ягодах черемухи, хурме и др. Богатых таннинами растений травоядные животные как правило избегают и в этом одна из основных причин усиленного синтеза таннинов разными видами растений. С солями железа (FeCl_2 ; FeSO_4) таннины дают соединения темно синей окраски.

Ход работы. В пробирку с теплым раствором чая внести такой же объем раствора сульфата железа, наблюдать изменения окраски.

3. Выявление алкалоидов

Алкалоиды представляют собой сложные азотистые соединения основного характера, обладающие ядовитыми свойствами и характерные для отдельных групп растений. Многие алкалоиды имеют горький или жгучий вкус, что играет защитную роль против поедания этих растений животными. Концентрированная серная или соляная кислота дают с различными алкалоидами желтую, красную, голубую, фиолетовую или зеленую окраску.

Ход работы. В чашку Петри поместить кусочек черешка листа молочая либо другого богатого алкалоидами растения, раздавить стеклянной палочкой, прилить концентрированную серную или соляную кислоту, наблюдать изменения окраски.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение закономерностей жизнедеятельности растений является теоретической основой для выращивания высокопродуктивных насаждений и повышения их устойчивости к неблагоприятным факторам окружающей среды. На лабораторных занятиях студенты знакомятся с методами исследований в области физиологии растений, которые могут быть использованы в практической деятельности, например, при оценке физиологического состояния дерева.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Николаевский, В.С.** Лабораторный практикум по физиологии растений: учеб. Пособие для вузов / В.С.Николаевский. – М.: МЛТИ, 1988. – 77 с.
- Барынина, Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В.** Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М.: МГУ, 2004 – 312с.
- Медведев, С.С.** Физиология растений – С.-Петербург: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2004. – 336 с.
- Полевой, В.В.** Физиология растений / В.В. Полевой. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
- Практикум по физиологии растений: учебное пособие для студентов высших педагогических учебных заведений.** / В.Б. Иванов, И.В. Плотникова, Е.А. Живухина и др.; Под редакцией В.Б. Иванова. – 2-е изд., испр. – М.: Издательский центр «Академия», 2004 – 144с.

ПРИЛОЖЕНИЕ

РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КОНЦЕНТРАЦИИ И
ОСМОТИЧЕСКОЕ ДАВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ САХАРОЗЫ

Показатель шкалы рефрак- тометра	Концентрации		Осмоти- ческое давление в А	Показатель шкалы рефрак- тометра	Концентрации		Осмоти- ческое давление в А
	%	Г/М			%	Г/М	
1.3344	1.06	0.030	0.79	1.3422	6.26	0.187	4.94
1.3346	1.19	0.034	0.89	1.3424	6.39	0.191	5.04
1.3348	1.32	0.038	1.00	1.3426	6.55	0.196	5.17
1.3350	1.46	0.042	1.11	1.3428	6.68	0.200	5.27
1.3352	1.59	0.046	1.21	1.3430	6.81	0.204	5.38
1.3354	1.72	0.050	1.32	1.3432	6.97	0.209	5.54
1.3356	1.86	0.054	1.43	1.3434	7.10	0.213	5.64
1.3358	1.99	0.058	1.54	1.3436	7.24	0.217	5.75
1.3360	2.12	0.062	1.64	1.3438	7.37	0.221	5.86
1.3362	2.26	0.066	1.75	1.3440	7.50	0.225	5.96
1.3364	2.39	0.070	1.86	1.3442	7.63	0.229	6.07
1.3366	2.51	0.074	1.97	1.3444	7.76	0.233	6.19
1.3368	2.65	0.078	2.06	1.3446	7.89	0.237	6.33
1.3370	2.80	0.082	2.18	1.3448	8.02	0.241	6.44
1.3372	2.95	0.087	2.31	1.3450	8.15	0.245	6.55
1.3374	3.05	0.090	2.37	1.3452	8.27	0.249	6.66
1.3376	3.19	0.094	2.49	1.3454	8.40	0.253	6.77
1.3378	3.35	0.098	2.62	1.3456	8.53	0.257	6.88
1.3380	3.45	0.101	2.70	1.3458	8.66	0.261	6.99
1.3382	3.60	0.106	2.81	1.3460	8.81	0.266	7.09
1.3384	3.70	0.109	2.89	1.3462	8.94	0.270	7.28
1.3386	3.86	0.115	3.04	1.3464	9.06	0.274	7.39
1.3388	4.00	0.119	3.16	1.3466	9.19	0.278	7.50
1.3390	4.11	0.122	3.24	1.3468	9.31	0.282	7.61
1.3392	4.31	0.128	3.41	1.3470	9.44	0.286	7.72
1.3394	4.41	0.131	3.49	1.3472	9.57	0.290	7.84
1.3396	4.56	0.136	3.61	1.3474	9.69	0.294	7.97
1.3398	4.70	0.140	3.72	1.3476	9.85	0.299	8.12
1.3400	4.80	0.143	3.80	1.3478	9.97	0.303	8.23
1.3402	4.95	0.147	3.91	1.3480	10.10	0.307	8.34
1.3404	5.11	0.152	4.03	1.3482	10.25	0.311	8.45
1.3406	5.21	0.156	4.11	1.3484	10.37	0.315	8.57
1.3408	5.36	0.159	4.23	1.3486	10.50	0.319	8.69
1.3410	5.47	0.163	4.32	1.3488	10.62	0.323	8.82
1.3412	5.61	0.167	4.43	1.3490	10.75	0.327	8.94
1.3414	5.73	0.171	4.54	1.3492	10.87	0.331	9.06
1.3416	5.87	0.175	4.64	1.3494	10.99	0.335	9.18
1.3418	5.99	0.179	4.74	1.3496	11.15	0.340	9.32
1.3420	6.12	0.183	4.85	1.3498	11.27	0.344	9.44

Продолжение приложения

Показатель шкалы рефрак- тометра	Концентрации		Осмоти- ческое давление в А	Показатель шкалы рефрак- тометра	Концентрации		Осмоти- ческое давление в А
	%	Г/М			%	Г/М	
1.3500	11.39	0.348	9.56	1.3570	15.85	0.492	13.89
1.3502	11.52	0.352	9.68	1.3572	15.98	0.496	14.02
1.3504	11.64	0.356	9.81	1.3574	16.11	0.500	14.14
1.3506	11.77	0.360	9.93	1.3576	16.23	0.504	14.27
1.3508	11.90	0.364	10.06	1.3578	16.36	0.508	14.39
1.3510	12.03	0.368	10.18	1.3580	16.49	0.512	14.51
1.3512	12.15	0.373	10.30	1.3582	16.62	0.517	14.64
1.3514	12.28	0.377	10.43	1.3584	16.74	0.521	14.76
1.3516	12.41	0.381	10.55	1.3586	16.87	0.525	14.89
1.3518	12.54	0.385	10.67	1.3588	17.00	0.529	15.01
1.3520	12.66	0.389	10.80	1.3590	17.13	0.533	15.13
1.3522	12.79	0.393	10.92	1.3592	17.25	0.537	15.26
1.3524	12.92	0.397	11.05	1.3594	17.38	0.541	15.38
1.3526	13.05	0.401	11.17	1.3596	17.51	0.545	15.50
1.3528	13.17	0.405	11.29	1.3598	17.64	0.550	15.63
1.3530	13.30	0.410	11.42	1.3600	17.76	0.554	15.75
1.3532	13.43	0.414	11.54	1.3602	17.89	0.558	15.88
1.3534	13.56	0.418	11.67	1.3604	18.02	0.562	16.00
1.3536	13.68	0.422	11.79	1.3606	18.15	0.566	16.12
1.3538	13.81	0.426	11.91	1.3608	18.27	0.570	16.25
1.3540	13.94	0.430	12.04	1.3610	18.40	0.574	16.37
1.3542	14.07	0.434	12.16	1.3612	18.53	0.578	16.49
1.3544	14.19	0.438	12.28	1.3614	18.66	0.582	16.62
1.3546	14.32	0.442	12.41	1.3616	18.78	0.587	16.74
1.3548	14.45	0.447	12.53	1.3618	18.91	0.591	16.87
1.3550	14.58	0.451	12.66	1.3620	19.04	0.595	16.99
1.3552	14.70	0.455	12.78	1.3622	19.17	0.599	17.11
1.3554	14.83	0.459	12.90	1.3624	19.29	0.603	17.24
1.3556	14.96	0.463	13.03	1.3626	19.42	0.607	17.36
1.3558	15.09	0.467	13.15	1.3628	19.55	0.611	17.49
1.3560	15.21	0.471	13.28	1.3630	19.68	0.615	17.61
1.3562	15.34	0.475	13.40	1.3632	19.80	0.620	17.73
1.3564	15.47	0.480	13.52	1.3634	19.93	0.624	17.86
1.3566	15.60	0.484	13.65	1.3636	20.06	0.628	17.98
1.3568	15.72	0.488	13.77	1.3638	20.19	0.632	18.10

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная литература:

1. Веретенников А.В. Физиология растений – Воронеж, 2002. – 256 с.
2. Веретенников А.В. Физиология растений – М.: Академический проект, 2006. – 480 с.
3. Медведев С.С. Физиология растений – С.-Петербург: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2004. – 336 с.
4. Полевой В.В. Физиология растений – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.

Дополнительная литература:

5. Битюцкий Н.П. Микроэлементы и растение – С.-П.: Изд-во С.-П. университета, 1999. – 230 с.
6. Гетко Н.В. Растения в техногенной среде. Структура и функция ассимиляционного аппарата – Минск: Наука и техника, 1989. – 208 с.
7. Горышина Т.К. Фотосинтетический аппарат растения и условия среды – Л.: Изд-во ЛГУ, 1989. – 204 с.
8. Горышина Т.К. Растение в городе. - Л.: Изд-во ЛГУ, 1991. – 148 с.
9. Гэлстон А., Девис П., Сэттер Р. Жизнь зеленого растения – М.: Мир, 1983. – 552 с.
10. Комиссаров Г.Г. Фотосинтез: физико-химический подход – М.: Едиториал УРСС, 2003. – 224 с.
11. Крамер П., Козловский Т. Физиология древесных растений – М.: Лесная промышленность, 1983. – 463 с.
12. Кудинов М.А. Внешняя среда и формирование устойчивости у древесных растений – Минск: Наука и техника, 1989. – 208 с.
13. Фелленберг Г. Загрязнение природной среды. Введение в экологическую химию – М.: Мир, 1997. – 232 с.
14. Фролов А.К. Окружающая среда крупного города и жизнь растений в нем – Санкт-Петербург: Наука, 1998. – 328 с.
15. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: СПбГУ, 2002 – 240с.
16. Якушкина Н.И., Бахтенко Е.Ю. Физиология растений – М.: Владос, 2005. – 463 с.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
РАБОЧАЯ ПРОГРАММА	4
ПРИМЕРНЫЕ ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ.....	8
ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ	11
Работа 1 КЛЕТКА КАК ОСМОТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА	11
Работа 2 НАБЛЮДЕНИЕ ВРЕМЕННОГО ПЛАЗМОЛИЗА	12
Работа 3 РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМЫ ПЛАЗМОЛИЗА	12
Работа 4 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСМОТИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СОКА МЕТОДОМ ПЛАЗМОЛИЗА	12
Работа 5 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ И ОСМОТИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СОКА РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ	14
Работа 6 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСУЩЕЙ СИЛЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ПОМОЩИ РЕФРАКТОМЕТРА	15
Работа 7 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ТРАНСПИРАЦИИ И ПОТЕРИ ВОДНОГО ЗАПАСА У СРЕЗАННЫХ ЛИСТЬЕВ ПРИ ПОМОЩИ ТОРЗИОННЫХ ВЕСОВ.....	16
Работа 8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДОУДЕРЖИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ РАСТЕНИЙ МЕТОДОМ ЗАВЯДАНИЯ	17
Работа 9 ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ ЛИСТА	18
Работа 10 ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ	20
Работа 11 СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ	22
Работа 12 СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕРОДА В ЛИСТЬЯХ МОКРЫМ СЖИГАНИЕМ	24
Работа 13 ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗЫ ПО А.Н. БОЯРКИНУ	25
Работа 14 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЫХАТЕЛЬНОГО КОЭФФИЦИЕНТА.....	27
Работа 15 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ЗОЛЯ В РАЗЛИЧНЫХ ЧАСТЯХ ДРЕВЕСНОГО РАСТЕНИЯ.....	29
Работа 16 МИКРОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗОЛЫ	31
Работа 17 ДИАГНОСТИКА ПОТРЕБНОСТИ РАСТЕНИЙ В АЗОТЕ И ФОСФОРЕ	33
Работа 18 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗИМОСТОЙКОСТИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ПО П.А.ГЕНКЕЛЮ И Е.З. ОКНИНОЙ	34
Работа 19 ВЫЯВЛЕНИЕ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ САХАРОВ НА ПРОТОПЛАЗМУ	35
Работа 20 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖАРОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПО МАЦКОВУ	36
Работа 21 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАСУХО- И ГАЗОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПО ВОДОУДЕРЖИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ УСТЬИЧНОГО АППАРАТА ЛИСТЬЕВ	37
Работа 22 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГАЗОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПО ПОВРЕЖДАЕМОСТИ ЛИСТЬЕВ ГАЗОМ	38
Работа 23 СТИМУЛЯЦИЯ АУКСИНОМ ОБРАЗОВАНИЯ ПРИДАТОЧНЫХ КОРНЕЙ В ЧЕРЕНКАХ РАСТЕНИЙ.....	39
Работа 24 ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОДУКТОВ ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА В ТКАНЯХ РАСТЕНИЙ	40
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	42
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	42
ПРИЛОЖЕНИЕ	43
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА.....	45