

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«Владимирский государственный университет  
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых»  
Кафедра ботаники, зоологии и экологии

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ  
К ЛАБОРАТОРНЫМ РАБОТАМ  
ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ  
ДЛЯ НАПРАВЛЕНИЯ  
050100.62 "ПЕДАГОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ"

Составители  
И. В. ВАХРОМЕЕВ  
А. А. ВАХРОМЕЕВА



Владимир 2013

УДК 596(075.8)

ББК 28.57Я73

М54

Рецензент

Кандидат биологических наук, доцент кафедры технологии сельскохозяйственного производства Владимирского филиала Российского государственного аграрного заочного университета

*А. М. Кокорин*

Печатается по решению редакционно-издательского совета ВлГУ

**Методические** указания к лабораторным работам по физиологии растений для направления 050100.62 «Педагогическое образование» / Владим. гос. ун-т им. А. Г. и Н. Г. Столетовых ; сост.: И. В. Вахромеев, А. А. Вахромеева. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2013. – 48 с.

Даются рекомендации по выполнению лабораторных работ по курсу "Физиология растений" и темам "Введение в науку "Физиология растений", "Физиология растительной клетки", "Водный режим у растений" и "Минеральное питание".

Предназначены для студентов, обучающихся в ВлГУ по направлению 050100.62 "Педагогическое образование", а также учебно-вспомогательного персонала, обеспечивающего подготовку лабораторий к выполнению практикума по физиологии растений.

Рекомендовано для формирования профессиональных компетенций в соответствии с ФГОС 3-го поколения.

Табл. 2. Библиогр.: 4 назв.

УДК 596(075.8)

ББК 28.57Я73

## ВВЕДЕНИЕ

Лабораторные занятия – обязательный компонент дисциплины "Физиология растений", изучаемый студентами на третьем курсе. Только с помощью лабораторных занятий будущие учителя могут не только убедиться в истинности многих утверждений, рассматриваемых в ходе лекционного курса, но и закрепить ранее полученные навыки и освоить новые методики, например, по микроскопической технике, анализу веществ с помощью микро- и полумикрометода, организации и проведению исследований с помощью методов почвенных, песчаных или водных культур и многое другое. Таким образом, студенты в ходе лабораторных работ получают необходимый объем знаний и умений, который нужен учителю биологии для проведения соответствующих уроков с учащимися или организации с учениками внеклассной научно-исследовательской работы.

Однако не только овладение практическими навыками преследуется лабораторным практикумом по физиологии растений. Сама по себе данная форма обучения способствует развитию у студентов научной формы мышления, логики, умению доказывать и отстаивать свою точку зрения, способности работать в коллективе и совместно решать поставленные задачи.

В данных методических указаниях приведены описания и последовательность (алгоритм) выполнения лабораторных работ по темам „Введение в науку о процессах жизнедеятельности растений”, „Физиология растительной клетки”, „Водный режим и минеральное питание у растений”, т.е. тех тем, которые традиционно изучаются в первой части курса "Физиология растений".

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

## ***ТРЕБОВАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ, ПОДГОТОВКЕ ОТЧЕТОВ И ИХ ЗАЩИТЕ***

Лабораторные работы выполняют студенты, как, правило, в составе бригад по 2 – 3 человека. Поскольку время, отводимое для проведения лабораторных работ, ограничено, а некоторые опыты требуют достаточно длительных по времени подготовительных работ или наблюдений, обязательным условием допуска к лабораторным работам является знание студентом последовательности действий, видов операций и предполагаемых целей по каждой лабораторной работе. Для этого перед выполнением лабораторных работ преподаватель обычно проводит проверку подготовленности студентов к лабораторному занятию (в устной или письменной форме). Студенты в составе бригады по итогам собеседования получают или не получают допуск к выполнению лабораторных работ.

Студенты, не получившие допуск из-за неподготовленности к выполнению лабораторной работы (не знают, что и как должны делать в ходе лабораторной работы, не имеют необходимых инструментов или приспособлений и т.д.), должны на этом же занятии пройти повторное собеседование и получить допуск. Лабораторное занятие такие студенты отрабатывают уже во внеурочное время. Студенты, не прошедшие повторного собеседования, к выполнению лабораторной работы не допускаются до тех пор, пока не пройдут собеседование, при этом задолженность по данной лабораторной работе ликвидируется ими во внеурочное время.

По итогам выполнения лабораторных работ на занятии каждый студент индивидуально (несмотря на то что работы выполняются в составе бригады) должен подготовить и защитить отчет.

Отчет оформляют на листах формата А4 только с одной стороны без использования печатающей и множительной техники (принте-

ров, светокопировальных устройств и т.д.) за исключением титульного листа, таблиц и графиков, которые могут быть подготовлены с помощью ПЭВМ и распечатаны. Распечатанные таблицы и графики либо аккуратно наклеивают, либо размещают соответствующим образом среди рукописного текста.

Отчет должен содержать следующие обязательные элементы:

- титульный лист (см. прил. 1);
- цель занятия (работы);
- перечисление и описание приборов, оборудования, реактивов, биологических и других объектов;
- ход выполнения занятия (конкретной работы);
- результаты наблюдений и исследований;
- выводы.

Кроме указанных составляющих, по согласованию с преподавателем могут включаться и другие элементы (приложения, машинограммы (распечатки), фотографии и т.д.).

Если в ходе лабораторного занятия предусмотрено выполнение двух лабораторных работ или более, то по итогам данного занятия оформляют единый отчет с одним титульным листом, в котором отчеты о выполнении отдельных лабораторных работ оформляют в виде составных частей, содержащих указанные выше подразделы, кроме титульного листа.

Отчет оформляется, в целом, согласно основным требованиям ГОСТ 7.32-2001 "Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления" (поля, оформление рисунков, графиков и т.д.).

В разделе "Приборы, оборудование, реактивы, биологические и другие объекты" в отчете указывают именно те приборы, реактивы и биологические объекты, с помощью которых или на которых проводилось исследование.

Раздел "Ход выполнения работы" оформляется от имени студента во множественном числе или в безличной форме, например: "мы взяли навеску соли...", "было изучено движение цитоплазмы...".

Раздел "Результаты наблюдений и исследований" оформляют наиболее подробно, включая все промежуточные результаты, расчеты и т.п. Типичной ошибкой при оформлении данного раздела является приведение только итоговых результатов и значений.

В разделе "Выводы" необходимо указать, достигнута ли цель лабораторного занятия (работы), каковы результаты эксперимента, дать ответы на вопросы, содержащиеся в разделе "Задания", приведенные для каждой лабораторной работы в данных методических указаниях.

Защита отчета по лабораторному занятию проводится, как правило, в форме научной дискуссии, в ходе которой студенты должны обосновать полученные результаты, дать необходимые дополнительные пояснения, ответить на вопросы преподавателя, касающиеся методики и особенностей выполнения экспериментов, отраженных в данном отчете. В ряде случаев преподаватель может выбрать и другие формы защиты лабораторных работ (тестирование, доклад и т.д.).

Студенты, защитившие отчет, считаются освоившими конкретное лабораторное занятие (тему). В этом случае отчеты сдают преподавателю, о чем в специальной ведомости делается запись, а сдавшие отчет в ней расписываются.

## ***ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ***

### Тема 1. ВВЕДЕНИЕ В НАУКУ О ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ

#### Лабораторное занятие 1. ***Основы биометрии. Определение площади листовой пластины весовым методом***

В практике физиологических исследований нередко возникает необходимость количественной оценки каких-либо исследуемых параметров биологических систем.

В качестве освоения азов биометрии (измерений при биологических исследованиях) в данной лабораторной работе предлагается определить площади листовых пластин (имеющих относительно простую геометрическую форму) наиболее распространенных дикорастущих древесных растений, провести несложную статистическую обработку результатов и определить погрешность измерения.

В основе одного из способов определения площади листовой пластины лежит весовой метод, который позволяет определить площадь конкретного листа, а также вывести на основании нескольких замеров поправочный коэффициент.

Найденные величины площади листовых пластин, например, 10 – 15 значений, полученных по 10 – 15 листьям, представляют собой выборку (выборочные данные) из генеральной совокупности (большого или бесконечного массива данных, как правило, с неизвестными параметрами: видом распределения, математическим ожиданием, стандартным отклонением и т.д.). Одной из основных задач биометрии, как и теории обработки экспериментальных данных вообще, является получение информации об особенностях генеральной совокупности. Анализ выборки может помочь как раз и решить такую задачу.



Наиболее часто встречающаяся закономерность распределения биологических данных в генеральной совокупности подчиняется так называемому нормальному закону распределения или, по-другому, распределению Гаусса. Положительное подтверждение проверки гипотезы о том, что выборочные данные взяты из генеральной совокупности с нормальным распределением (проводится с помощью разнообразных подходов и методик), дает возможность использовать целый ряд классических параметрических критериев и связанных с нормальным законом других распределений, в первую очередь, распределение Стьюдента.

В случае когда небольшая по объему выборка (до 30 значений) взята из генеральной совокупности с нормальным законом распределения, исследователь получает возможность с помощью распределения Стьюдента, например, определить с заданной долей вероятности (для биологических исследований считается допустимым 95 %-ная доверительная вероятность, т.е. вероятность ошибиться составляет 5 %) интервал, в котором находится средняя арифметическая генеральной совокупности (генеральная средняя). Для этого для выборочной средней рассчитывают так называемый доверительный интервал, в котором вероятнее всего и будет находиться истинное среднее арифметическое (генеральная средняя).

Доверительный интервал для выборочной средней находят по формуле

$$\frac{t \cdot СКО}{\sqrt{n}}, \quad (1)$$

где  $t$  – коэффициент Стьюдента (находится для заданной доверительной вероятности или уровня значимости, а также числа степеней свободы из соответствующих таблиц критических значений распределения Стьюдента);

$СКО$  – стандартное, или (по-другому) среднее квадратическое, отклонение;

$n$  – число значений в выборке.

Итоговая форма записи доверительного интервала тогда будет иметь вид

$$\bar{x} \pm \frac{t \cdot CKO}{\sqrt{n}}, \quad (2)$$

где  $\bar{x}$  – выборочное среднее арифметическое.

### **Цель работы**

Овладение навыками проведения некоторых измерительных операций биологических объектов (взвешивание на аналитических весах, определение геометрических показателей) и простейшей статистической обработки результатов, полученных в ходе экспериментальных исследований.

### **Материалы и оборудование**

Свежие или загербаризированные листья липы сердцелистной (*Tilia cordata*), березы повислой (*Betula pendula*), осины (*Populus tremula*) – 10–15 листьев; писчая бумага; ножницы; весы чашечные или торсионные; калькулятор или ПЭВМ.

### **Ход работы**

1. Положить на лист писчей бумаги лист древесной породы и начертить вокруг него прямоугольник со сторонами, соответствующими наибольшей ширине и высоте листовой пластины. Затем аккуратно внутри прямоугольника обвести контур листовой пластины.

2. Из бумаги вырезать сначала прямоугольник и взвесить его на весах. Определить площадь данного прямоугольника. Затем вырезать из данного бумажного прямоугольника контур листовой пластины, его также взвесить. Результаты занести в таблицу. Провести аналогичные замеры других листовых пластин (не менее 8 – 10 пластин).

3. Рассчитать площадь каждой листовой пластины по формуле

$$S_{л} = \frac{M_{л} S_{np}}{M_{np}}, \quad (3)$$

где  $M_{л}$  – масса бумажного контура листовой пластины, г;

$S_{np}$  – площадь бумажного прямоугольника, мм<sup>2</sup>;

$M_{np}$  – масса бумажного прямоугольника, г;

4. Данные занести в таблицу.

Показатель	Лист							
	1	2	3	4	5	6	7	8
$M_{np}$								
$S_{np}$								
$M_{л}$								
$S_{л}$								
$\bar{S}_{л}$								
$CKO$								

5. Рассчитать средние значения площади листа и величину среднего квадратичного отклонения ( $CKO$ ) для средней площади листа ( $\bar{S}_{л}$ ) по формуле

$$CKO = \sqrt{\frac{\sum (S_{ли} - \bar{S})^2}{n-1}}, \quad (4)$$

где  $S_{ли}$  – значение площади отдельного листа (1, 2, 3-го и т.д.);

$\bar{S}$  – среднее арифметическое значение площади листа в выборке;

$n$  – количество измерений.

Занести рассчитанные значения в таблицу.

6. Определить границы 95 %-ного доверительного интервала средней площади листа используя  $t$ -распределение Стьюдента (прил. 2) по формуле (1).

### Задание

Сделать выводы о величине средней площади листовой пластины. Результаты измерений и расчета представить в виде доверительного интервала для выборочной средней по форме, представленной в выражении (2).

## Тема 2. ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

### Лабораторное занятие 2. *Движение цитоплазмы*

#### Лабораторная работа 2.1. *Наблюдение движения цитоплазмы*

Движение цитоплазмы – характерная особенность живой растительной клетки, показатель активности процессов ее жизнедеятельности. Наиболее удобны для наблюдения за перемещением клеточных органелл крупные клетки с большими вакуолями. Различают движение цитоплазмы спонтанное, постоянное и индуцированное внешними факторами – изменением освещенности, температуры, химическими веществами, механическими воздействиями и т.п. Движение цитоплазмы – один из наиболее чувствительных показателей жизнеспособности клетки. Многие даже незначительные воздействия останавливают или, наоборот, ускоряют его. Движение цитоплазмы обеспечивает внутриклеточный и межклеточный транспорт веществ, перемещение органелл внутри клетки. Оно выполняет, вероятно, и другие, пока еще неизвестные функции. В его осуществлении участвуют элементы цитоскелета – микротрубочки. Источником энергии этого движения служит АТФ.

#### **Цель работы**

Познакомиться с одним из методов обнаружения движения цитоплазмы.

#### **Материалы и оборудование**

Микроскоп; настольная лампа; предметные и покровные стекла; пинцет; препаровальная игла; скальпель; фильтровальная бумага; растения: элодея (*Elodea canadensis*), валлиснерия (*Vallisneria americana* или *V. spiralis*), хара (*Chara sp.*), нителла (*Nitella flexilis* или другие виды рода *Nitella*), цветки традесканции (*Tradescantia sp.*) с опущенными тычиночными нитями.

## **Ход работы**

При работе с растительным материалом в зависимости от определенного преподавателем вида растения необходимо придерживаться некоторых рекомендаций.

### **При работе с элодеей**

Обрывание листа вызывает в клетках растения движение цитоплазмы, которое легко наблюдать по перемещению всех хлоропластов в одном направлении вдоль клеточной стенки. Такое движение называется ротационным. В двух соседних клетках оно может происходить в разных направлениях – по часовой стрелке и против нее. Наиболее интенсивное движение можно увидеть в длинных узких клетках средней жилки листа элодеи. У растений, находившихся перед исследованием при слабом освещении или в темноте, движение хлоропластов обычно не наблюдается. Воздействие солнечного света или света от электрической лампы в течение нескольких минут позволяет активизировать движение хлоропластов.

1. Оторвать лист вблизи верхушки побега и поместить его в каплю воды, взятой из сосуда с элодеей.

2. Объект накрыть покровным стеклом и рассмотреть сначала при малом увеличении, затем при большом. Лист элодеи состоит только из двух слоев клеток, и каждый слой легко просматривается под микроскопом.

3. Создать условия для наблюдения или активизации движения хлоропластов.

### **При наблюдении над валлиснерией**

1. Острой бритвой отрезать небольшой кусочек, стараясь как можно меньше травмировать лист.

2. Поместить его в каплю воды на предметное стекло и рассмотреть под микроскопом.

Делать срезы с листа не рекомендуется, так как клетки при этом сильно травмируются и движение в них останавливается!

Объекты изучения – водоросли нителла или хара. У всех харовых водорослей, характеризующихся крупными клетками до 30 – 40 мм

длиной, обычно наблюдается очень быстрое движение цитоплазмы, но хлоропласты в этих клетках неподвижны. Для наблюдения лучше всего брать кусочек водоросли с цельной мутовкой во избежание повреждения отдельных клеток.

У нителлы каждая веточка мутовки образована одной клеткой. У хары каждая веточка образована пучком клеток, и только конец веточки заканчивается единичной клеткой, в которой наблюдается движение цитоплазмы.

К целлюлозной оболочке непосредственно примыкает плотный и неподвижный слой цитоплазмы, называемый эктоплазмой. В этом слое фиксированы хроматофоры, которые по величине и форме очень похожи на хлоропласты высших растений. Они образуют один слой плотно примыкающих друг к другу продольных или слегка косо расположенных рядов. Между слоем эктоплазмы и вакуолью находится внутренний жидкий слой цитоплазмы, так называемая эндоплазма. Слой эндоплазмы постоянно находится в движении, течет. Его интенсивное движение можно обнаружить по перемещению отдельных оторвавшихся хроматофоров, а также ядер и других органелл.

Вдоль всей длины клетки проходит узкая светлая полоса, расположенная с некоторым наклоном к продольной оси клетки. Эта полоса, так называемая индифферентная зона, представляет собой вырост оболочки внутрь клетки. Внедрившаяся в цитоплазму оболочка раздвигает слой хроматофоров, благодаря чему и возникает светлая полоска. С одной стороны от индифферентной зоны эндоплазма течет в одну сторону, а с другой – в противоположную.

Движение цитоплазмы у нителлы и хары можно наблюдать при малом увеличении микроскопа.

1. Острой бритвой отрезать небольшой кусочек водоросли.
2. Поместить его в каплю воды на предметное стекло и рассмотреть под микроскопом.

Изучение движения в клетках волосков тычиночных нитей традесканции

Каждый волосок представляет собой цепочку клеток. Внутри всякой живой неповрежденной клетки происходит постоянное движение цитоплазмы, которое обнаруживается по перемещению мелких органелл в одном направлении. Особенно хорошо это движение видно в тяжах цитоплазмы, пересекающих в разных направлениях крупную вакуоль. Часто можно наблюдать, как меняется расположение самого этого тяжа цитоплазмы. В поврежденных клетках движения нет и цитоплазма представлена виде сгустков.

1. Из цветка или из еще не раскрывшегося бутона осторожно вынуть одну тычинку, отделить от нее пыльник, а нить с волосками поместить на предметное стекло в каплю воды и осторожно накрыть покровным стеклом, стараясь не раздавить волоски.

2. Препарат рассматривают сначала при малом увеличении микроскопа с объективом х40, потом при большом.

### **Задание**

Сделать схематические рисунки клеток биологических объектов, по которым получено задание. На схематических рисунках стрелками указать направление движения цитоплазмы. Отметить, наблюдалось ли движение сразу после приготовления препарата или оно менялось под действием освещения.

## Лабораторная работа 2.2. *Определение скорости движения цитоплазмы*

### **Цель работы**

Познакомиться с методами измерения скорости движения цитоплазмы.

### **Материалы и оборудование**

Микроскоп; настольная лампа; термостат; предметные и покровные стекла; секундомер; пинцет; препаровальная игла; скальпель; фильтровальная бумага; 40%-ный раствор этанола; растения: элодея, валлиснерия, хара или нителла, цветки традесканции с опущенными тычиночными нитями.

## **Ход работы**

1. Подготовить три препарата на основании рекомендаций, приведенных в лабораторной работе 2.1.

2. На всех трех препаратах, используемых в лабораторной работе 2.1, определить скорость движения цитоплазмы при нормальных условиях (комнатной температуре и обычном уровне освещенности в лаборатории).

3. После определения скорости движения цитоплазмы при нормальных условиях определить скорость движения цитоплазмы при воздействии повышенной температуры (первый препарат), повышенного уровня освещенности (второй препарат) и раствора этанола (третий препарат). Измерения скорости для каждого случая провести в трех повторностях.

Выявить влияние света или температуры можно выдерживая препарат на ярком свете (необходимо следить, чтобы электрическая лампочка не сильно нагревала препарат) или в термостате при температуре 35 и 40 °С в течение 5, 10 и 15 мин (условия определяет преподаватель).

Для определения скорости движения цитоплазмы используют секундомер и окулярную линейку, помещенную в окуляр микроскопа. С помощью секундомера отсчитывают время, в течение которого хлоропласт или другая движущаяся частица проходит расстояние между двумя выбранными делениями окулярной линейки. Такие измерения в одной и той же клетке проводят несколько раз. По ним рассчитывают среднюю величину скорости движения в микрометрах в секунду.

Расстояние, которое проходит движущаяся частица, можно определить и без окулярной линейки, оценивая его приблизительно в долях диаметра поля зрения микроскопа. Диаметр поля зрения при объективе х40 с окуляром х15 составляет 200 мкм, с окуляром х15 – 270 мкм, с окуляром х7 – 900 мкм.



4. Данные измерений занести в таблицу.

Вид (изучаемый объект)	Фактор воздействия и его интенсивность	Скорость движения, мкм/с			
		1	2	3	средняя
	Контроль				
	Повышенная температура (указать значение °С)				
	Раствор этанола (указать процентную концентрацию)				
	Свет от электрической лампы				

### **Задание**

Определить скорость движения цитоплазмы при нормальных условиях, а также при воздействии повышенной температуры и уровня освещенности и воздействия химического вещества.

## **Лабораторное занятие 3. *Изучение свойств клеточных мембран и цитоплазмы***

### **Лабораторная работа 3.1. *Проницаемость клеточных мембран для веществ клеточного сока***

Растительная клетка состоит из твердой клеточной стенки и протопласта – цитоплазмы с расположенными в ней ядром и другими органоидами. В цитоплазме находятся также вакуоли, заполненные клеточным соком, причем в зрелых клетках содержится одна большая вакуоль, занимающая всю центральную часть клетки. Клеточный сок представляет собой водный раствор минеральных и органических веществ; в вакуолях некоторых клеток содержатся водорастворимые пигменты, чаще всего антоцианы.

Клеточная стенка имеет ультрамикроскопические поры диаметром до 10 нм (плазмодесмы), через которые свободно диффундируют любые растворенные вещества, тогда как цитоплазматические мембраны (наружная – плазмалемма и вакуолярная – тонопласт) легко пропускают воду и очень медленно большинство растворенных веществ.

### **Цель работы**

Познакомиться с таким свойством клеточных мембран, как избирательная проницаемость. Выяснить при каких условиях мембраны не выполняют в клетке функций по избирательной проницаемости.

### **Материалы и оборудование**

Корнеплод красной свеклы; 30%-ная уксусная кислота; хлороформ в капельнице (с притертой пипеткой); тарелка; фарфоровая чашка; скальпель; пинцет; штатив с пробирками (4 шт.); стакан химический; держалка для пробирок; спиртовка или газовая горелка; спички.

### **Ход работы**

1. Вырезать из очищенного корнеплода красной свеклы четыре одинаковых брусочка длиной около 2 и шириной 1 см (корнеплод должен быть свежим, т.е. иметь хороший тургор, так как с подвявшим материалом опыт не дает четких результатов).

2. Положить брусочки в фарфоровую чашку и многократно промывать водопроводной водой до тех пор, пока не прекратится выделение окрашенного сока из перерезанных клеток.

3. Поместить брусочки в 4 пробирки и налить в две пробирки воду (до  $\frac{1}{2}$  объема), в третью – воду и 5 капель хлороформа, в четвертую – 30%-ную уксусную кислоту. Одну из пробирок с водой прокипятить в течение 1 – 2 мин (при выполнении данной операции помнить требования техники безопасности и выполнять их), слить жидкость и залить брусочек холодной водой.

4. Наблюдать в течение 1 – 2 ч за изменением окраски жидкости в пробирках, время от времени взбалтывая их содержимое. Результаты записать в форме таблицы.

№ п/п	Вариант опыта	Степень окрашивания жидкости (описать окраску)
1	Вода (при t = 20 °С)	
2	Вода (при t = 100 °С)	
3	Вода + хлороформ	
4	Уксусная кислота (30 %-ная)	

### **Задание**

Сделать выводы о степени проницаемости мембран при воздействии на клетку различных факторов среды. Ответить на следующие вопросы (оформить в выводах). 1. Пропускает ли живая цитоплазма вещества клеточного сока? 2. Как влияют на проницаемость цитоплазмы кипячение и ядовитые вещества? 3. Чем объясняется различная скорость окрашивания жидкости в разных вариантах опыта?

### *Лабораторная работа 3.2. Определение жизнеспособности семян методом окрашивания (по Д. Н. Нелюбову)*

#### **Цель работы**

Определить жизнеспособность семян методом окрашивания.

Метод окрашивания семян для определения их всхожести основан на непроницаемости живой цитоплазмы (плазмалеммы) для некоторых красок (индигокармин, кислый фуксин), тогда как мертвая цитоплазма легко прокрашивается. Бывают случаи, когда зародыш мертвый и тем не менее при погружении семени в раствор краски оно не окрашивается из-за того, что окружающие зародыш части семени не пропускают краску. В связи с этим необходимо предварительно обнажить зародыш: у семян с эндоспермом извлечь зародыш или разрезать семя вдоль, а у семян без эндосперма удалить семенные покровы.

Подготовленные описанным способом семена выдерживают в растворе краски от 1 до 3 ч (в зависимости от вида растения) и оцени-

вают жизнеспособность семян: семена с полностью окрашенными зародышами или с окрашенными корешками считают невсхожими, семена неокрашенные или с частично окрашенными семядолями относят к числу жизнеспособных.

Данный метод используют для быстрой оценки всхожести семян гороха, фасоли, люпина, льна, конопли, тыквенных.

### **Материалы и оборудование**

Семена гороха, намоченные в воде за 10 – 15 ч до занятия; 0,1 %-ный раствор индигокармина (1 г на 1 л дистиллированной воды); чашки фарфоровые (2 шт.); стакан химический; стакан фаянсовый с влажными опилками; тарелка; препаровальная игла; электроплитка; карандаш по стеклу.

### **Ход работы**

1. Отсчитать, не выбирая, две порции по 10 набухших семян гороха. Одну порцию поместить в стакан с водой и прокипятить в течение 5 мин (контроль). Осторожно, не повреждая семядоли, очистить препаровальной иглой семена обеих порций от кожуры, поместить в фарфоровые чашки, залить раствором индигокармина и выдержать 1 ч, после чего слить краску обратно в бутылочку, а семена отмыть водой от избытка красителя.

2. Отметить окраску семян, убитых кипячением. В контрольной порции подсчитать количество окрашенных, частично окрашенных и неокрашенных семян.

3. Для проверки всхожести высадить все 10 семян в стакан с влажными опилками, поставить в темный шкаф и ежедневно поливать. Через несколько дней подсчитать количество проросших семян.

4. Окончательные результаты записать в таблицу.

Объект исследования	Исходное количество семян, шт.	Количество семян, шт.				
		Окрашенных полностью	Окрашенных частично	Неокрашенных	Проросших	Непроросших

## Задание

Сопоставить результаты, полученные методом окрашивания и методом проращивания. Сделать выводы о точности метода.

### Лабораторное занятие 4. *Явления плазмолиза и деплазмолиза*

#### Лабораторная работа 4.1. *Наблюдение за плазмолизом и деплазмолизом*

Растительную клетку можно рассматривать как осмотическую систему, в которой роль раствора осмотически действующих веществ играет клеточный сок, а роль полупроницаемой перепонки – цитоплазматические мембраны. Клеточный сок, как и любой раствор, обладает потенциальным осмотическим давлением, которое прямо пропорционально числу частиц в единице объема независимо от размеров и характера этих частиц (молекулы, ионы). Раствор, отделенный от чистой воды полупроницаемой перепонкой (пропускающей воду и непроницаемой для растворенных веществ), сосет воду с силой, численно равной его осмотическому давлению, т.е. давлению, которое нужно приложить, чтобы воспрепятствовать передвижению воды в сторону раствора.

Для каждой клетки можно подобрать следующие растворы: 1) *гипотонический*, осмотическое давление которого меньше осмотического давления клеточного сока; 2) *изотонический*, имеющий осмотическое давление, равное осмотическому давлению клеточного сока; 3) *гипертонический*, осмотическое давление которого больше, чем давление клеточного сока.

При погружении клетки в гипертонический раствор вода из нее выходит наружу до выравнивания осмотических давлений клеточного сока и внешнего раствора. При этом клетка претерпевает следующие изменения: сначала она сокращается, а после полной потери тургора цитоплазма отстает от клеточной стенки по углам (уголковый плазмолиз), затем во многих местах (вогнутый плазмолиз) и, наконец,

протопласт округляется (выпуклый плазмолиз). Образующееся пространство между цитоплазмой и клеточной стенкой (хорошо проницаемой как для воды, так и для растворенных веществ) заполняется внешним раствором. В качестве плазмолитиков (веществ, растворы которых вызывают плазмолиз) используют неядовитые вещества, плохо проникающие или совсем не проникающие через цитоплазму в вакуоль.

Плазмолиз – обратимый процесс. Исчезновение плазмолиза называется деплазмолизом.

### **Цель работы**

Изучить изменения, происходящие в цитоплазме клетки.

### **Материалы и оборудование**

Луковица синего лука или листья традесканции; 1 М раствор сахарозы в капельнице; лезвие бритвы; скальпель; пинцет; препаровальная игла; микроскоп; предметные и покровные стекла; стакан с кипяченой водопроводной водой; стеклянная палочка; кусочки фильтровальной бумаги; спиртовка; спички.

### **Ход работы**

1. Срезать бритвой кусочек эпидермиса, клетки которого содержат антоциан. Во избежание повреждения клеток эпидермиса желательно, чтобы срез состоял из двух слоев клеток.

2. Поместить срез в каплю воды на предметное стекло, накрыть покровным стеклом и рассмотреть в микроскоп клетки с окрашенным клеточным соком. Заменить воду 1 М раствором сахарозы, для чего на предметное стекло рядом с покровным нанести большую каплю раствора и отсосать воду кусочком фильтровальной бумаги, прикладывая его с другой стороны покровного стекла. Повторить этот прием 2 – 3 раза до полной замены воды раствором. Все время следить в микроскоп за тем, что происходит в клетках.

3. Сделать схематические рисунки клеток в состоянии тургора, уголкового, вогнутого и выпуклого плазмолиза, обозначив основные составные части клеток.

4. Ввести под покровное стекло 2 – 3 капли воды, отсасывая раствор фильтровальной бумагой, и немедленно приступить к наблюдению деплазмолиза клеток (обратите внимание на скорость этого процесса по сравнению с плазмолизом).

5. После окончания деплазмолиза убить клетки, держа край предметного стекла пинцетом и осторожно нагревая препарат на пламени спиртовки (газовой горелки), не допуская испарения воды. Заменить воду на 1 М раствор сахарозы и, рассматривая препарат в микроскоп, установить, происходит ли плазмолиз.

### **Задание**

Оформить результаты наблюдений. Ответить на следующие вопросы. 1. Что такое плазмолиз и каковы его причины? 2. Как происходит деплазмолиз? 3. Способны ли плазмолизироваться мертвые клетки?

### *Лабораторная работа 4.2. Определение вязкости цитоплазмы по времени плазмолиза*

Промежуток времени от момента погружения клеток в гипертонический раствор до появления выпуклого плазмолиза называют временем плазмолиза. Это время зависит от вязкости цитоплазмы: чем меньше вязкость, тем легче цитоплазма отстает от клеточной стенки и тем быстрее вогнутый плазмолиз переходит в выпуклый. Вязкость цитоплазмы зависит от степени дисперсности и гидратации коллоидов, от содержания в клетке воды и ряда других факторов. Цитоплазма растущих клеток и клеток, закончивших рост, имеет разную вязкость.

Для опыта используют молодые листочки элодеи, в которых можно различить четыре зоны: в основании расположена слабо окрашенная зона деления клеток, выше находится зона растяжения, еще выше – зона дифференцировки и, наконец, верхушка листа, которая состоит из клеток, закончивших свой рост и имеющих интенсивно зеленую окраску.

## Цель работы

Определить вязкость цитоплазмы по времени плазмолиза.

## Материалы и оборудование

Веточки элодеи; луковица синего лука или листья традесканции; 0,8 М раствор сахарозы в капельнице; лезвие бритвы; препаровальная игла; пинцет; микроскоп; предметные и покровные стекла.

## Ход работы

1. Взять 2 – 3 молодых листочка из верхушечной части побега элодеи (листья должны иметь зеленый кончик и бледно-зеленое основание), погрузить в каплю 0,8 М раствора сахарозы на предметном стекле и закрыть покровным стеклом.

2. Для сравнения в другую каплю раствора сахарозы поместить срез эпидермиса синего лука или традесканции.

3. Отметить время погружения исследуемых объектов в раствор.

4. Рассматривая препараты в микроскоп через каждые 5 мин, определить время плазмолиза, причем у листа элодеи следует наблюдать за клетками различных зон.

5. Занести результаты наблюдений в таблицу.

Исследуемый объект	Время, мин	Фаза плазмолиза (в виде схематического рисунка)

## Задание

Сделать вывод о зависимости вязкости цитоплазмы от возраста клетки.

### Лабораторная работа 4.3. *Влияние ионов калия и кальция на вязкость цитоплазмы*

Ионы минеральных солей способны влиять на свойства коллоидов цитоплазмы, изменяя ее вязкость, причем ионы одно- и двухвалентных металлов проявляют противоположное действие. О вязкости



цитоплазмы можно судить по времени плазмолиза: при большой вязкости цитоплазма с трудом отстает от клеточной стенки, сохраняя длительное время вогнутые поверхности (вогнутый плазмолиз), если же вязкость цитоплазмы мала, то вогнутый плазмолиз быстро переходит в выпуклый.

### **Цель работы**

Установить влияния ионов калия и кальция на вязкость цитоплазмы по времени и форме плазмолиза.

### **Материалы и оборудование**

Луковица синего лука; растворы 1 М  $KNO_3$  и 0,7 М  $Ca(NO_3)_2$  в капельницах (оба раствора должны быть приготовлены из химически чистых солей на дистиллированной или, еще лучше, бидистиллированной воде); лезвие бритвы; препаровальная игла; микроскоп; предметные и покровные стекла; карандаш по стеклу; вазелин; кусочки фильтровальной бумаги.

### **Ход работы**

1. Нанести на предметные стекла по капле растворов  $KNO_3$  и  $Ca(NO_3)_2$  (сделать на стеклах соответствующие надписи).

2. Поместить в растворы по кусочку эпидермиса с окрашенным клеточным соком и закрыть покровными стеклами.

3. Во избежание испарения смазать края покровных стекол вазелином (или время от времени вводить под покровные стекла новые капли растворов).

4. Записать время погружения срезов в растворы и сразу приступить к наблюдению под микроскопом, отмечая время наступления фаз плазмолиза (при этом не следует принимать во внимание периферическую зону, так как там свойства цитоплазмы могут быть изменены вследствие раневого раздражения).

5. Результаты записать в таблицу.

Плазмолитик	Время погружения в раствор	Время наступления плазмолиза (хронометраж)		
		уголкового	вогнутого	выпуклого
$KNO_3$				
$Ca(NO_3)_2$				

## **Задание**

Зарисовать наиболее характерные клетки через 5 – 10 мин после погружения срезов в растворы. Сделать вывод о влиянии ионов калия и кальция на вязкость цитоплазмы.

## **Лабораторное занятие 5. *Определение величины осмотического потенциала в клетках растительной ткани плазмолитическим методом***

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

## **Цель работы**

Познакомиться с плазмолитическим методом определения величины осмотического потенциала клеток. Рассчитать на основании полученных экспериментальных данных величину осмотического давления в клетках исследуемых объектов.

## Материалы и оборудование

1М раствор хлорида натрия или сахарозы; дистиллированная вода; пробирки или стаканчики для приготовления растворов; предметные и покровные стекла; фильтровальная бумага; лезвия безопасной бритвы или скальпель; пинцет; стеклянная палочка; микроскоп; бюретки; растения: луковица лука репчатого.

## Ход работы

1. Приготовить по 10 мл растворов хлорида натрия (или сахарозы) следующих концентраций: 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1 М. Для этого исходный 1 М раствор разбавляют дистиллированной водой по схеме (табл. 1).

Таблица 1

Концентрация раствора, моль/л	1 М исходный раствор NaCl, мл	Дистиллированная вода, мл
1,0	10	0
0,8	8	2
0,6	6	4
0,4	4	6
0,2	2	8
0,1	1	9
0,0	0	10

В седьмой стаканчик наливают дистиллированную воду.

2. Приготовленные растворы взболтать и закрыть крышечками. Стаканчики снабдить этикетками и поставить в один ряд по убывающей концентрации. Против каждого стаканчика положить чистые и сухие предметные стекла и перенести на них с помощью стеклянной палочки капли растворов из соответствующих стаканчиков. Перед погружением стеклянной палочки в следующий раствор ее необходимо сполоснуть дистиллированной водой и тщательно вытереть фильтровальной бумагой.

3. В приготовленные капли поместить кусочки верхней эпидермы чешуи луковицы. Для этого в средней части одной и той же чешуи на ее вогнутой стороне лезвием бритвы сделать надрезы эпидермы небольшими квадратиками. Затем пинцетом снять находящиеся рядом

кусочки эпидермы, поместить их на предметные стекла в заранее приготовленные капли разных растворов и накрыть чистыми и сухими покровными стеклами.

Вся процедура приготовления препаратов эпидермы должна проходить быстро, без задержек, чтобы избежать подсыхания капель растворов и кусочков ткани, так как это может привести к изменению их водных потенциалов.

4. Через 10 – 20 мин препараты изучить под микроскопом, отметить наличие или отсутствие плазмолиза. Сделать рисунки клеток с типичной для каждого раствора степенью плазмолиза. Результаты оформить в виде таблицы.

Концентрация раствора, моль/л	Время, прошедшее после воздействия раствора, мин	Фаза плазмолиза (пояснение в виде рисунка)
1,0		
0,8		
0,6		
0,4		
0,2		
0,1		
0,0		

Сильный плазмолиз показывает, что осмотический потенциал внешнего раствора значительно ниже, чем осмотический потенциал клетки. Отсутствие плазмолиза может означать, что осмотический потенциал раствора выше осмотического потенциала клетки или равен ему. Выбирают такие два соседних по концентрации раствора, в одном из которых наблюдается уголковый плазмолиз, а в другом плазмолиза нет. Раствор со средней концентрацией между концентрациями этих двух растворов будет изотоничен раствору в клетке, т.е. его водный потенциал будет равен водному потенциалу клетки.

5. Рассчитать величину  $\psi_{\text{осм}}$  изотонического раствора, используя уравнение Вант–Гоффа:

$$\psi_{\text{осм}} = -RTCi,$$

где  $R$  – газовая постоянная 0,0821 (л·атм)/(град·моль);

$T$  – абсолютная температура, К;

$C$  – концентрация в молях;

$i$  – изотонический коэффициент (для неэлектролитов – 1), характеризующий степень гидролитической диссоциации растворенного вещества (табл. 2).

Для перевода величины водного потенциала, рассчитанного в атмосферах, в килопаскали полученный результат нужно умножить на 101,3.

Таблица 2

Концентрация NaCl, моль/л	1,0	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	10 <sup>-3</sup>
$i$	1,62	1,64	1,66	1,68	1,70	1,73	1,75	1,78	1,83	1,93

### Задание

Определить величину осмотического потенциала в клетках эпидермы чешуи луковицы плазмолитическим методом.

### Лабораторное занятие 6. *Определение осмотического давления растительных тканей по изменению концентрации внешнего раствора (метод Шардакова)*

Определение величины осмотического давления в клетках растений может быть основано на определении изменения концентрации раствора после выдерживания в нем исследуемых растительных тканей. Изменение концентрации раствора можно определить разными методами: 1) по изменению показателя преломления раствора, измеряемого с помощью рефрактометра; 2) по изменению плотности раствора, измеряемого методом Шардакова.

Метод Шардакова, не требующий специальных приборов и оборудования, основан на сравнении плотностей исходного (контрольного) раствора с этим же раствором после выдерживания в нем ткани. У раствора, не изменившего плотности, величина осмотического потенциала  $\psi_{\text{осм}}$  равна величине осмотического давления клеток тканей растения  $\psi_{\text{тк}}$ .

### **Цель работы**

Познакомиться с методом Шардакова и определить водный потенциал кусочков ткани, указанных преподавателем биологических объектов.

### **Материалы и оборудование**

1 М раствор хлорида натрия; дистиллированная вода; бюретки; штативы; пробирки – 16 шт.; большая пробирка; пробочные сверла диаметром 5 мм; тонкая стеклянная палочка; пипетка с резинкой и оттянутым кончиком; мерная пипетка на 1 мл; фильтровальная бумага; растения: клубни картофеля, корнеплоды репы, моркови, листья различных комнатных растений.

### **Ход работы**

1. В пробирках приготовить по 10 мл растворов хлорида натрия следующих концентраций: 0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 М.

2. Мерной пипеткой перенести по 1 мл каждого приготовленного раствора в маленькие чистые и сухие пробирки, а оставшиеся растворы являются контрольными. Объемы растворов, перенесенные в маленькие пробирки, должны быть строго одинаковы. Поэтому все растворы нужно брать одной пипеткой, начиная с раствора самой низкой концентрации и последовательно переходя к растворам с большей концентрацией. После каждого раствора промывать пипетку дистиллированной водой нельзя. Необходимо лишь удалять из нее с помощью фильтровальной бумаги все остатки предшествующего раствора. Благодаря этому объемы растворов в маленьких пробирках будут одинаковы, а изменения их концентраций из-за использования одной и той же пипетки без ее промывания и высушивания будут наименьшими. Для предотвращения испарения воды пробирки можно закрыть пробками.

3. Взять пробы тканей. Они должны быть одинаковыми, поэтому их высекают сверлом диаметром не менее 5 мм из пластинки, вырезанной из органа растения. Можно также сначала вырезать из него пробочным сверлом столбик, который затем разрезать на диски одинаковой толщины. При работе с тканями корня или клубня диски делают толщиной 6 – 8 мм. Если объектом служит лист, то для одной пробы берут по 4 – 6 дисков из листовой пластинки. Все диски по мере возможности должны состоять из одинаковых тканей.

4. Диски слегка обсушить фильтровальной бумагой и опустить в маленькие пробирки с растворами, выдержать их 20 – 30 мин. Затем ткани вынуть, а растворы подкрасить метиленовым синим, для чего используют его интенсивно окрашенный раствор, который переносят в пробирку тонкой стеклянной палочкой. Переносить краску пипеткой не рекомендуется, так как это может изменить плотность исследуемого раствора, в котором были выдержаны высебки тканей.

5. Плотность каждого подкрашенного раствора сравнивают с плотностью исходных растворов следующим образом: пипеткой с тонким оттянутым концом отбирают небольшую порцию подкрашенного опытного раствора. Кончик пипетки опускают в большую пробирку с соответствующим исходным раствором (примерно до его середины) и, слабо нажимая на резинку, выпускают из пипетки небольшую капельку раствора.

6. В ходе работы необходимо наблюдать за окрашенной каплей, которая в разных растворах будет или всплывать, или опускаться, или останется на месте.

7. Результат наблюдений занести в таблицу.

Концентрация раствора, моль/л	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,8	1,0
Движение капли							

Величину  $\psi_{\text{осм}}$  рассчитывают, пользуясь уравнением Вант-Гоффа.

## **Задание**

Определить и рассчитать величину водного потенциала тканей. Объяснить, в каких случаях капля подкрашенного раствора будет всплывать, опускаться или оставаться на месте.

## Тема 3. ВОДНЫЙ РЕЖИМ У РАСТЕНИЙ

### Лабораторное занятие 7. *Поглощение воды растениями и транспирация*

#### Лабораторная работа 7.1. *Потометрический метод определения скорости поглощения воды растением*

Измерить количество воды, поглощенной растением, можно при помощи потометра – простейшего прибора, состоящего из заполненного водой сосуда, соединенного с горизонтальной градуированной трубкой и с воронкой для подливания воды по мере потребления ее растением. Воду следует брать кипяченую, чтобы не было пузырьков воздуха. Исследуемое растение вставляют в сосуд, добиваясь герметизации установки, и измеряют скорость передвижения мениска воды в градуированной трубке. В связи с тем что главный двигатель восходящего тока – сосущая сила испаряющих клеток листа, изменяя условия транспирации, можно выяснить влияние этого процесса на поглощение воды растением. Срезая надземные органы, изучают активное поглощение воды корневой системой, обусловленное корневым давлением.

#### **Цель работы**

Познакомиться с методикой определения количества поглощаемой растением воды и определить величину скорости поглощения конкретным растительным биологическим объектом воды с помощью потометра в зависимости от некоторых внешних факторов.



## **Материалы и оборудование**

Потометр; штатив; кипяченая охлажденная вода; вата; пластилин; песочные часы на 3 мин или секундомер; вентилятор или фен; кристаллизатор; скальпель; растения: проростки кукурузы, фасоли или других растений, укорененные в воде черенки фуксии или традесканции.

## **Ход работы**

1. Вставить в отверстие пробки потометра исследуемое растение (вид растения для исследований определяет преподаватель), обернув стебель ватой и замазав сверху и снизу пластилином (для более плотного закрепления стебля целесообразно разрезать пробку на две части и зажать стебель между этими частями). Налить доверху в резервуар потометра кипяченую воду и, держа прибор над кристаллизатором, плотно вставить пробку (при этом часть воды выльется через трубку). Проследить за тем, чтобы в сосуде не осталось ни одного пузырька воздуха.

2. Проверить герметичность установки, наклоняя потометр трубкой вниз: при этом мениск в трубке не должен передвигаться.

3. Поставить потометр вертикально (закрепить в штативе) и измерить скорость передвижения мениска в трубке за два трехминутных интервала (в зависимости от интенсивности поглощения воды растением интервалы между отсчетами можно увеличить или уменьшить).

4. Сделать измерения, обдувая листья вентилятором или феном (холодный воздух!). При отсутствии вентилятора движение воздуха создают, энергично взмахивая куском картона около растения.

5. После этого срезать надземную часть растения и сделать еще два отсчета. Результаты записать в таблицу.

Вариант опыта	Положение мениска			Среднее смещение мениска за 3 мин, мм
	исходное	через 3 мин	через 6 мин	
Целое растение: Неподвижный воздух Ветер				
Растение без надземной части				

### Задание

Исследовать зависимость интенсивности транспирации от степени движения воздуха вокруг растения и от площади транспирирующей поверхности растений. Определить скорость поглощения воды растением в ходе эксперимента. Ответить на следующие вопросы. 1. В чем заключается связь между транспирацией и поступлением воды в растение? 2. Почему после удаления испаряющих органов продолжается поглощение воды корнями?

### *Лабораторная работа 7.2. Определение интенсивности транспирации по уменьшению массы срезанных листьев*

Транспирация – процесс испарения воды надземными частями растений. Интенсивность транспирации – это количество воды, испаренной в единицу времени единицей листовой поверхности. Отношение интенсивности транспирации к интенсивности эвапорации (испарения со свободной водной поверхности) при тех же условиях называется относительной транспирацией; этот показатель характеризует способность растений регулировать транспирацию и выражается в виде десятичной дроби.

Наиболее простой и достаточно точный метод учета транспирации – метод быстрого взвешивания, был предложен отечественным физиологом растений Л. А. Ивановым. Согласно данному методу побег или отдельный лист срезают и дважды взвешивают с интервалом не более 5 мин, так как при более длительной экспозиции может начаться завядание листьев, снижающее транспирацию. Установленное этим методом уменьшение массы листьев соответствует количеству испаренной воды (увеличением массы в процессе фотосинтеза можно пренебречь, поскольку интенсивность фотосинтеза во много раз меньше интенсивности транспирации).

### **Цель работы**

Познакомиться с методикой определения транспирации у растений, разработанной Л. А. Ивановым, оценить величину интенсивности транспирации для реальных растительных объектов.

### **Материалы и оборудование**

Торсионные весы; технические весы с разновесом; ножницы; скальпель; чашки Петри; нитки; миллиметровая бумага; фильтровальная бумага; комнатные растения: пеларгония (*Pelargonium sp.*), примула (*Primula sp.*), традесканция и другие (конкретный вид растения указывает преподаватель).

### **Ход работы**

1. Установить торсионные весы в вертикальное положение (по уровню) и проверить их нулевую точку, после чего закрыть арретир и снять с крючка корзиночку.

2. Срезать лист с небольшим отрезком черешка, немедленно подвесить его к крючку весов при помощи нитки с петлей на конце (привязав другой конец за черешок), быстро взвесить и записать время уравнивания весов.

3. Через 3 – 4 мин сделать второе взвешивание, также отметив время. Если испарение идет слабо, можно увеличить экспозицию до 5 мин.

4. Закрыть арретир и снять лист с крючка.

5. Определить площадь листовой пластины по методике, приведенной в лабораторном занятии 1.

6. Определить при тех же условиях интенсивность эвапорации (свободного испарения). Для этого взвесить чашку, наполненную почти до краев водой комнатной температуры (наружная поверхность чашки должна быть совершенно сухой), и через любое время, например через 30 мин, сделать второе взвешивание.
7. Определить испаряющую поверхность, измерив внутренний диаметр чашки.
8. Результаты записать в таблицу, указав вид исследованного растения.

Объект	Время взвешивания		Экспозиция, мин	Масса, г		Испарение, г	Площадь, см <sup>2</sup>
	1-го	2-го		1-я	2-я		
Лист							
Сосуд с водой							

9. Вычислить интенсивность транспирации,  $I_m$  (г/(м<sup>2</sup>·ч), по формуле

$$I_m = n \cdot 10\,000 \cdot 60 / (s \cdot t),$$

где  $n$  – количество испарившейся воды, г;

$s$  – площадь, см<sup>2</sup>;

$t$  – экспозиция, мин;

10 000 – коэффициент перевода квадратных сантиметров в квадратные метры;

60 – коэффициент перевода минут в часы.

Вычислить интенсивность эвапорации ( $I_e$ ) по той же формуле.

10. Найти относительную транспирацию  $I_m / I_e$

### Задание

На основании величины относительной транспирации ( $I_m / I_e$  меньше 0,5 считается низкой) сделать вывод о регуляции листом процесса транспирации.

## Лабораторное занятие 8. *Изучение работы устьиц растений*

## Лабораторная работа 8.1. *Наблюдение за движением устьиц*

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

Гидропассивные движения закрывания связаны с насыщением водой клеток, которые окружают устьица. Гидроактивные закрывания устьиц связаны с увеличением в самих клетках устьиц водного дефицита и с повышением в них содержания абсцизовой кислоты, которая подавляет работу  $H^+$ -насосов на мембранах замыкающих клеток. Это приводит к снижению тургора замыкающих клеток и, следовательно, закрыванию устьиц. Фотоактивное открывание устьиц состоит в увеличении ширины устьичной щели при повышении интенсивности освещения (главная роль при этом отводится синему цвету).

### **Цель работы**

Наблюдать за устьичными движениями в воде и растворе глицерина.

### **Материалы и оборудование**

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

### **Ход работы**

1. Приготовить несколько срезов нижнего эпидермиса листа и поместить их на 2 ч в 5%-ный раствор глицерина. Глицерин проникает в вакуоли замыкающих клеток, понижает их водный потенциал и, следовательно, повышает их способность поглощать воду. Срезы по-

мещают на предметное стекло в том же растворе, отмечают состояние клеток и зарисовывают их.

2. Заменить глицерин на воду, оттягивая из-под стекла фильтровальной бумагой. При этом должно наблюдаться открывание устьичных щелей.

3. Препарат зарисовать.

4. Заменить воду 20%-ным раствором глицерина или 1 М раствором сахарозы. При этом должно наблюдаться закрывание устьиц.

### **Задание**

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

## *Лабораторная работа 8.2. Сравнение транспирации верхней и нижней сторон листа хлоркобальтовым методом*

Интенсивность транспирации на нижней и верхней сторонах одной и той же листовой пластины, как правило, различна. Для того чтобы определить различия в транспирации на верхней и нижней сторонах листа можно использовать простой и доступный метод, основанный на использовании индикаторных свойств некоторых растворов.

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

### **Цель работы**

Определить интенсивность транспирации на верхней и нижней сторонах листовых пластин различных растений.

### **Материалы и оборудование**

Куски хлоркобальтовой бумаги размерами  $8 \times 10$  см; одинаковые стеклянные пластинки  $6 \times 9$  см (2 шт.); резиновые кольца для перевязывания стеклянных пластинок (2 шт.); электроплитка; пинцет; микроскоп; лезвие безопасной бритвы или скальпель; предметные и покровные стекла; препаровальная игла; стеклянный стаканчик; свежие листья комнатных растений (вид указывает преподаватель).

### **Ход работы**

1. Просушить над электроплиткой сложенный пополам кусок хлоркобальтовой бумаги до появления ярко-голубого цвета и немедленно приложить его к двум сторонам листа (свежесорванного или непосредственно на растении). Хлоркобальтовые бумажки следует держать пинцетом, не дотрагиваясь до них пальцами, от которых могут остаться розовые пятна. Чтобы устранить действие атмосферной влаги, осторожно зажать лист вместе с наложенной на него бумагой между двумя стеклянными пластинками и перевязать их резиновыми кольцами.

2. Наблюдать за изменением окраски хлоркобальтовой бумаги и записать результат.

3. Сделать срезы верхнего и нижнего эпидермиса исследованного листа (или другого листа этого же растения), рассмотреть их в микроскоп при большом увеличении и зарисовать.

### **Задание**

Сделать выводы о причинах различной интенсивности транспирации верхней и нижней сторон листа данного растения и о соотношении устьичной и кутикулярной транспираций.

## Тема 4. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ У РАСТЕНИЙ

### Лабораторное занятие 9. *Изучение некоторых особенностей минерального питания растений*

#### Лабораторная работа 9.1. *Микрохимический анализ золы*

Об особенностях минерального питания растений можно судить по химическому составу неорганической составляющей растительных тканей. Одним из наиболее простых способов является метод озоления отдельных частей растения с последующим исследованием несгоревшей неорганической части. Для изучения химического состава золы можно использовать микрохимический метод, для которого требуется небольшое количество материала. Зола, получаемая при сжигании растений, содержит большое количество элементов, среди которых различают макроэлементы (фосфор, серу, калий, кальций, магний) и микроэлементы (железо, медь, цинк, марганец, молибден, бор и ряд других).

#### **Цель работы**

Определить с помощью микрохимического метода аналитической химии основные неорганические элементы, входящие в ткани растений. Научиться осуществлять простейшие демонстрационные реакции для выявления наиболее распространенных химических элементов, присутствующих в органах и тканях растений.

#### **Материалы и оборудование**

Зола, полученная при сжигании листьев, или табачный пепел; 10%-ный раствор HCl; 1%-ный раствор H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 10%-ный раствор NH<sub>3</sub>; 1%-ный раствор Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1%-ный раствор молибдата аммония в 1%-ной HNO<sub>3</sub>; 1%-ный раствор желтой кровяной соли в капельнице; дистиллированная вода; пробирки (2 шт.); воронка маленькая; бумажный фильтр; стеклянные палочки с заостренным концом (2 шт.); предметные стекла (3 шт.); микроскоп; фильтровальная бумага.



### Ход работы

1. Насыпать в пробирку небольшое количество золы и залить ее примерно четырехкратным объемом 10%-ной HCl.

2. Отфильтровать полученный раствор в чистую пробирку через маленький фильтр.

3. Провести на предметных стеклах реакции на определение макро- и микроэлементов: Ca, Mg, Fe и P.

Для этого тупым концом стеклянной палочки нанести на предметное стекло маленькую каплю вытяжки и на расстоянии 4 – 5 мм от нее – каплю соответствующего реактива. Затем заостренным концом стеклянной палочки соединить капли дугообразным каналом. В месте соединения произойдет реакция, причем по краям канала будет наблюдаться быстрая кристаллизация продуктов реакции.

Рассмотреть образующиеся кристаллы в микроскоп. Стеклянные палочки после нанесения каждого реактива необходимо вымыть и вытереть фильтровальной бумагой.

Реактивом на ион кальция служит 1%-ная H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. В данной реакции образующийся гипс осаждается в виде игольчатых кристаллов.

Для обнаружения магния к капле испытуемого раствора следует сначала добавить каплю раствора аммиака, а затем соединить каналом с реактивом, которым служит 1%-ный раствор фосфорнокислого натрия. Образуется фосфорно-аммиачномагнезиальная соль, кристаллизующаяся в виде прямоугольников, крышечек, звезд или крыльев.

Для обнаружения фосфора соединить каплю вытяжки с 1 %-ным раствором молибдата аммония в азотной кислоте. Получается зеленовато-желтый осадок фосфорномолибденовокислого аммония.

Железо можно обнаружить с помощью раствора желтой кровяной соли. В результате реакции образуется берлинская лазурь.

Реакцию на железо рекомендуется проводить в пробирке: к остатку зольной вытяжки добавлять по каплям раствор желтой кровяной соли.

## **Задание**

Результаты работы оформить в виде рисунков полученных кристаллов гипса, фосфорноаммиачномагнезиальной соли и фосфорномолибденовокислого аммония и берлинской лазури.

### *Лабораторная работа 9.2. Определение сдвига pH раствора в результате поглощения ионов $\text{NH}_4^+$ и $\text{NO}_3^-$ из питательного раствора*

В зависимости от состава солей, входящих в почвенный раствор, при азотном питании растений возможно смещение значения кислотности почвы в ту или иную сторону. Изменение величины pH в зависимости от вида водного субстрата можно изучить на опыте с использованием двух солей сульфата аммония и нитрата натрия.

Соль  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – физиологически кислая, а соль  $\text{NaNO}_3$  – физиологически щелочная. Это значит, что после пребывания растения в растворе  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  реакция его смещается в кислую сторону вследствие большего поглощения иона  $\text{NH}_4^+$  по сравнению с ионом  $\text{SO}_4^{2-}$ .

После пребывания растения в растворе соли  $\text{NaNO}_3$  реакция смещается в щелочную сторону, так как анион  $\text{NO}_3^-$  поглощается растением в большей степени, нежели катион Na.

### **Цель работы**

Определить величины изменения значений водородного показателя.

### **Материалы и оборудование**

Пипетка; фарфоровая чашечка; 1%-ный водный раствор  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 1%-ный водный раствор  $\text{NaNO}_3$ ; универсальный индикатор или лакмусовая бумага для определения pH в диапазоне значений от 1 до 14; растения репчатого лука (*Allium cepa*) с развитой корневой системой, заблаговременно выращенные на водопроводной воде (две луковицы).

### **Ход работы**

1. Одну луковицу помещают в раствор  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , а другую – в раствор  $\text{NaNO}_3$ .

2. Для определения изменения реакции раствора определяют исходную величину рН раствора, в который будет помещено растение. Затем с периодичностью 30 мин в течение 2 ч (если позволяют условия, продолжительность опыта можно увеличить до 4 ч, измеряя рН раствора через каждый час) измеряют величину рН, которая устанавливается в растворе.

3. Определение рН ведут или по искусственной шкале (обычно прилагается к лакмусовым индикаторам) или при помощи универсального индикатора, представляющего собой смесь индикаторов – метилового красного, бромтимолового синего и фенолового красного в отношении 2:2:1 и дающего возможность определить рН раствора в диапазоне значений от 3 до 9.

### **Задание**

Определить величины изменения значений водородного показателя для двух растворов солей за установленный преподавателем период времени. Проиллюстрировать результаты наблюдений графиками динамики изменения значений рН растворов.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение 1

#### *Пример оформления титульного листа отчета по лабораторному занятию*

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВЛАДИМИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ АЛЕКСАНДРА ГРИГОРЬЕВИЧА И НИКОЛАЯ ГРИГОРЬЕВИЧА СТОЛЕТОВЫХ»

Кафедра ботаники,  
зоологии и экологии

Отчет  
по лабораторному занятию № 1  
Основы биометрии. Определение площади листовой пластины весовым методом

Подготовил: студент группы Бг -110  
Иванов А.А.  
Принял: доцент Сидоров В.В.

Владимир 2013

## Приложение 2

### *Критические значения t-распределения Стьюдента (для двухсторонней области)*

Число степеней свободы	Доверительная вероятность, %			
	<b>0,90</b>	<b>0,95</b>	<b>0,99</b>	<b>0,999</b>
7	3,3138	12,7062	63,6567	636,619
8	2,92	4,3027	9,9248	31,5991
9	2,3534	3,1824	5,8409	12,924
10	2,1318	2,7764	4,6041	8,6103
11	2,015	2,5706	4,0321	6,8688
12	1,9432	2,4469	3,7074	5,9588
13	1,8946	2,3646	3,4995	5,4079
14	1,8595	2,306	3,3554	5,0413
15	1,8331	2,2622	3,2498	4,7809
16	1,8125	2,2281	3,1693	4,5869
17	1,7959	2,201	3,1058	4,437
18	1,7823	2,1788	3,0545	4,3178
19	1,7709	2,1604	3,0123	4,2208
20	1,7613	2,1448	2,9768	4,1405
21	1,753	2,1314	2,9467	4,0728
22	1,7459	2,1199	2,9208	4,015
23	1,7396	2,1098	2,8982	3,9651
24	1,7341	2,1009	2,8784	3,9216
25	1,7291	2,093	2,8609	3,8834
26	1,7247	2,086	2,8453	3,8495
27	1,7207	2,0796	2,8314	3,8193
28	1,7171	2,0739	2,8188	3,7921
29	1,7139	2,0687	2,8073	3,7676
30	1,7109	2,0639	2,7969	3,7454

## Библиографический список

1. Практикум по физиологии растений : учеб. пособие для студентов высш. пед. учеб. заведений / И. В. Плотникова, Е. А. Живухина, О. Б. Михалевский [и др.]. – М. : Академия, 2001. – 144 с.
2. Практикум по физиологии растений / Н. Н. Третьяков, Т. В. Карнаухова, Л. А. Паничкин [и др.]. – М. : Агропромиздат, 1990. – 271 с.
3. Практикум по физиологии растений / Ф. Д. Сказкин, Е. И. Ловчиновский, Т. А. Красносельская [и др.]. – М. : Сов. наука, 1953. – 321 с.
4. *Шилина, И. А.* Методические разработки по физиологии растений для студентов III курса / И. А. Шилина, В. Н. Балихина. – Владимир, 1979. – 50 с.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ТРЕБОВАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ, ПОДГОТОВКЕ ОТЧЕТОВ И ИХ ЗАЩИТЕ.....	5
ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ.....	8
Тема 1. <i>Введение в науку о жизни растений</i> .....	8
Лабораторное занятие 1. Основы биометрии. Определение площади листовой пластины весовым методом .....	8
Тема 2. <i>Физиология растительной клетки</i> .....	12
Лабораторное занятие 2. Движение цитоплазмы .....	12
Лабораторная работа 2.1. Наблюдение движения цитоплазмы .....	12
Лабораторная работа 2.2. Определение скорости движения цитоплазмы .....	15
Лабораторное занятие 3. Изучение свойств клеточных мембран и цитоплазмы .....	17
Лабораторная работа 3.1. Проницаемость клеточных мембран для веществ клеточного сока.....	17
Лабораторная работа 3.2. Определение жизнеспособности семян методом окрашивания (по Д. Н. Нелюбову).....	19
Лабораторное занятие 4. Явления плазмолиза и деплазмолиза .....	21
Лабораторная работа 4.1. Наблюдение за плазмолизом и деплазмолизом.....	21
Лабораторная работа 4.2. Определение вязкости цитоплазмы по времени плазмолиза .....	23
Лабораторная работа 4.3. Влияние ионов калия и кальция на вязкость цитоплазмы.....	24
Лабораторное занятие 5. Определение величины осмотического потенциала в клетках растительной ткани плазмолитическим методом .....	26
Лабораторное занятие 6. Определение осмотического давления растительных тканей по изменению концентрации внешнего раствора (метод Шардакова) .....	29
Тема 3. <i>Водный режим у растений</i> .....	32
Лабораторное занятие 7. Поглощение воды растениями и транспирация .....	32
Лабораторная работа 7.1. Потометрический метод определения скорости поглощения воды растением.....	32

Лабораторная работа 7.2. Определение интенсивности транспирации по уменьшению массы срезанных листьев .....	34
Лабораторное занятие 8. Изучение работы устьиц растений.....	37
Лабораторная работа 8.1. Наблюдение за движением устьиц.....	37
Лабораторная работа 8.2. Сравнение транспирации верхней и нижней сторон листа хлоркобальтовым методом .....	38
Тема 4. <i>Минеральное питание у растений</i> .....	40
Лабораторное занятие 9. Изучение некоторых особенностей минерального питания растений.....	40
Лабораторная работа 9.1. Микрохимический анализ золы .....	40
Лабораторная работа 9.2. Определение сдвига рН раствора в результате поглощения ионов $\text{NH}_4^+$ и $\text{NO}_3^-$ из питательного раствора .....	42
Приложения .....	44
Библиографический список.....	46

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ЛАБОРАТОРНЫМ РАБОТАМ  
ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ ДЛЯ НАПРАВЛЕНИЯ 050100.62  
"ПЕДАГОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ"

Составители  
ВАХРОМЕЕВ Илья Викторович  
ВАХРОМЕЕВА Анна Александровна

Ответственный за выпуск – зав. кафедрой доцент Е. П. Грачева

Подписано в печать 16.10.13.  
Формат 60x84/16. Усл. печ. л. 2,79. Тираж 50 экз.  
Заказ  
Издательство  
Владимирского государственного университета  
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых.  
600000, Владимир, ул. Горького, 87.