

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 2014

УДК 596(075.8)
ББК 28.57Я73
М54

Рецензенты:

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

Кандидат биологических наук, доцент
кафедры ботаники, зоологии и экологии
Владимирского государственного университета
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых
Л. С. Скрипченко

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, 2014. – 55 с.

Приводятся рекомендации по выполнению лабораторных работ по курсу "Физиология растений" и темам "Минеральное питание", "Фотосинтез", "Дыхание у растений", "Физиологические основы устойчивости растений к неблагоприятным факторам окружающей среды", "Методы физиологии растений в биоиндикации окружающей среды".

Предназначены в первую очередь для студентов, обучающихся в ВлГУ по направлению 050100.62 – Педагогическое образование, а также специалистов учебно-вспомогательного персонала ВлГУ, обеспечивающего подготовку лабораторий к выполнению практикума по физиологии растений, однако могут оказаться полезными также школьным учителям и всем тем, кто увлекается изучением растительного мира.

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

Ил. 7. Библиогр.: 8 назв.

УДК 596(075.8)
ББК 28.57Я73

Введение

Лабораторный практикум является неотъемлемой частью дисциплины "Физиология растений", изучаемой студентами вузов, обучающихся на третьем курсе по направлению "Педагогическое образование".

В процессе освоения и проведения лабораторных работ будущие учителя имеют возможность убедиться в истинности многих теоретических положений, рассматриваемых в лекционном курсе. Однако не только и не столько в этом кроется главное предназначение лабораторного практикума. Не вызывает сомнения утверждение, что специалистом в области биологии может считаться только тот человек, который в совершенстве владеет навыками организации и проведения лабораторных исследований. Именно эту главную задачу – дать навыки и умения самостоятельных экспериментальных исследований, в частности, физиологических процессов, протекающих в растительных организмах, – и решает предлагаемое издание. Кроме того, сама по себе форма обучения в виде выполнения лабораторно-практических занятий способствует развитию у студентов научной формы мышления, логики, умения доказывать и отстаивать свою точку зрения, способности работать в коллективе и совместно с коллегами решать поставленные задачи.

В настоящем издании приведены лабораторные работы, относящиеся к темам "Минеральное питание", "Фотосинтез", "Дыхание у растений", "Рост и развитие растений", "Физиологические основы устойчивости растений к неблагоприятным факторам окружающей среды". К сожалению, в силу объективных обстоятельств "Методические указания ...", если говорить об издании фактически оказались разделены на две части (такое деление соответствует учебному плану направления 050100.62 "Педагогическое образование", предусматривающего освоение курса "Физиология растений" в течение двух семестров). Первая часть вышла в 2013 году в виде методических указаний к лабораторным работам [4]. Таким образом, в настоящем издании приводится вторая часть, включающая в себя рекомендации по подготовке (для учебно-вспомогательного персонала) и выполнению

(для студентов) лабораторных работ, проводимых во второй части курса "Физиология растений", т.е. в весеннем семестре.

В издание вошли лабораторные работы, уже не первое десятилетие организуемые в процессе подготовки студентов, будущих учителей биологии (ранее во Владимирском государственном педагогическом университете). Большинство работ без особого преувеличения можно считать классическими, поскольку они уже многие десятилетия входят в практикумы, издаваемые не только различными вузами, но и центральными издательствами. Первоисточники или издания, из которых заимствованы и в той или иной степени доработаны или переработаны эти лабораторные работы приведены в библиографическом списке [1, 5 – 8].

Кроме того, составители сочли возможным ввести и несколько новых лабораторных работ, ранее не входивших в лабораторный практикум по физиологии растений в вузе, связанных с прикладным использованием методов физиологии растений не только в сельском или лесном хозяйствах, но и в вопросах мониторинга и охраны окружающей природной среды.

Для каждого лабораторного занятия помимо всех необходимых указаний и рекомендаций, приводятся краткие теоретические сведения, призванные помочь студенту вспомнить или дополнительно 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.

Поскольку в изданных ранее "Методических указаниях..." [4] один из первых разделов посвящен требованиям к оформлению отчетов и проведению защиты данных отчетов, составители сочли возможным опустить эту часть, введя вместо нее требования и рекомендации по обеспечению безопасности при проведении лабораторных работ, приведенные в приложении.

ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

Тема 1. ФОТОСИНТЕЗ*

Лабораторное занятие 1. *Получение пигментов из растительных тканей*

Лабораторная работа 1.1. *Пигменты зеленого листа*

Фотосинтез – процесс образования органических веществ из диоксида углерода и воды с использованием световой энергии



Фотосинтез происходит в хлоропластах, которые окружены двумя белково-липоидными мембранами. Хлоропласт состоит из системы ламеллярных двойных мембран – тилакоидов, образованных внутренней мембраной. В тилакоидах осуществляется световая фаза фотосинтеза, т.е. преобразование энергии световых лучей в химическую энергию молекул АТФ и НАДФ·Н₂, а биохимические реакции восстановления СО₂ и синтеза углеводов происходят в межтилакоидном пространстве.

В мембранах тилакоидов содержатся следующие основные пигменты: хлорофилл а С₅₅Н₇₂О₅Н₄Мg – зеленый с синеватым оттенком; хлорофилл в С₅₅Н₇₀О₆Н₄Мg – зеленый с желтоватым оттенком; каротин С₄₀Н₅₆ – желто-оранжевый; ксантофилл С₄₀Н₅₆О₂ – золотисто-желтый. Все эти пигменты не растворимы в воде, но растворяются в органических растворителях (спирте, ацетоне и др.).

Хлорофилл в отличается от хлорофилла а лишь тем, что у второго пирольного кольца вместо метильной группы имеется альдегидная.

Наряду с хлорофиллами а и в в хлоропластах содержатся каротиноиды – группа желтых пигментов, являющихся по химической природе тетратерпеноидами. Каротины (в основном β-каротин) – непредельные углеводороды, содержащие два симметрично располо-

* Для удобства читателя в настоящем издании принята своя независимая нумерация тем и лабораторных занятий, ориентированная на один семестр. В вышедших в 2013 году "Методических указаниях к лабораторным работам по физиологии растений..." [4], в которых даются рекомендации по выполнению лабораторных работ в первом семестре годичного курса изучения дисциплины, завершающей является тема 9 "Минеральное питание у растений".

женных иононовых кольца, соединенных длинной углеродной цепью. Среди ксантофиллов, являющихся кислородсодержащими производными каротина, преобладает лютеин, имеющий в каждом иононовом кольце спиртовую группу.

Цель работы

Освоить методику получения из растительных тканей основных растительных пигментов и их разделения, изучить некоторые свойства данных соединений.

Материалы и оборудование

Свежие или сушеные листья растений: крапива двудомная (*Urtica dioica*), примула комнатная (*Primula obconica*), виды рода аспидистра (*Aspidistra*), плющ (*Hedera canariensis*); этиловый спирт; бензин; 20%-ный раствор КОН в капельнице; 10%-ная HCl в капельнице; CaCO₃; уксуснокислый цинк; кварцевый песок или толченое стекло; ступка с пестиком (сухие); воронка; стеклянная палочка; штатив с пробирками (5 шт.); стакан с водой; пипетка; ножницы; скальпель; спиртовка; держатель для пробирок; вазелин; бумажный фильтр; спички; цветные карандаши.

Ход работы

1. Свежие или сушеные листья измельчить ножницами, отбросив крупные жилки и черешки, поместить в ступку, добавить на кончике ножа CaCO₃ (для нейтрализации кислот клеточного сока) и немного чистого кварцевого песка или толченого стекла. Тщательно растереть, приливая понемногу этиловый спирт, смазать носик ступки с наружной стороны вазелином и слить полученный темно-зеленый раствор по палочке в воронку с фильтром.

2. Налить полученную вытяжку по 2 – 3 мл в четыре пробирки и провести следующие опыты.

а) Разделение пигментов по Краусу. Добавить к спиртовой вытяжке пигментов несколько больший, чем у вытяжки объем бензина и 2 – 3 капли воды (чтобы спирт не смешивался с бензином). Закрывать пробирку большим пальцем, несколько раз сильно встряхнуть и дать отстояться. Если разделение пигментов будет недостаточно четким (оба слоя окрашены в зеленый цвет), то необходимо прилить еще бензина и продолжать взбалтывание. Помутнение нижнего слоя (от избытка воды) можно устранить, добавляя немного спирта. Отме-

тить окраску нижнего спиртового слоя и верхнего бензинового (сделать рисунок). ***Операцию проводить в вытяжном шкафу с соблюдением мер противопожарной безопасности!***

Сделать выводы о различной растворимости пигментов в спирте и бензине. При этом нужно учесть, что ксантофилл, будучи двухосновным спиртом, почти нерастворим в бензине. В отношении каротина правильный вывод можно будет сделать, сопоставив результаты данного опыта и следующего.

б) Омыление хлорофилла щелочью. К 2 – 3 мл спиртовой вытяжки пигментов добавить 4 – 5 капель 20%-ного раствора щелочи и взболтать. Прилить в пробирку равный объем бензина, сильно встряхнуть и дать отстояться. Отметить окраску спиртового и бензинового слоев (зарисовать). ***Операцию проводить в вытяжном шкафу с соблюдением мер противопожарной безопасности!***

В выводах записать реакцию омыления хлорофилла, в результате которой происходит отщепление спиртов – метилового и фитола, а двухосновная кислота хлорофиллин дает соль.

Соли хлорофиллинов имеют зеленую окраску, но отличаются от хлорофилла нерастворимостью в бензине.

Указать, какие вещества растворены в спирте, а какие – в бензине, имея в виду, что желтые пигменты со щелочью не реагируют.

в) Получение феофитина и восстановление металлорганической связи. Взять две пробирки со спиртовой вытяжкой пигментов и добавить в них по 2 – 3 капли 10%-ной соляной кислоты. Получается буровато-оливковое вещество – феофитин – продукт замещения магния в молекуле хлорофилла двумя атомами водорода.

В одну из пробирок с феофитином внести на кончике ножа немного уксуснокислого цинка и довести раствор до кипения. Если окраска не изменится, добавить еще уксуснокислого цинка и продолжать нагревание. Отметить изменение окраски благодаря восстановлению металлорганической связи (атом цинка становится на то место, где раньше был магний). Написать уравнение реакции. ***Операцию проводить с соблюдением мер противопожарной безопасности!***

Задание

Обобщить результаты опытов, сопроводив их соответствующими уравнениями реакций и рисунками.

Лабораторная работа 1.2. *Разделение пигментов методом бумажной хроматографии*

Хроматографический метод разделения пигментов, впервые предложенный русским ученым М. С. Цветом, заключается в том, что раствор, содержащий смесь пигментов, пропускается через слой адсорбента. Разные пигменты, обладая неодинаковой растворимостью в данном растворителе и разной адсорбируемостью, передвигаются с неодинаковой скоростью и располагаются на адсорбенте в разных местах. Чем больше растворимость пигмента в растворителе и чем хуже он адсорбируется данным адсорбентом, тем быстрее он будет передвигаться и тем дальше будет располагаться зона этого пигмента.

Одним из наиболее простых и доступных методов данного направления является хроматография на бумаге.

Цель работы

Освоить один из методов жидкостной хроматографии для разделения и идентификации хлорофиллов, содержащихся в растительных тканях.

Материалы и оборудование

Свежие листья комнатных растений (определяются преподавателем для каждой бригады (студента); ацетон; петролейный эфир; CaCO_3 ; кварцевый песок или толченое стекло; полоска фильтровальной бумаги для хроматографии (с крупными порами, так называемой

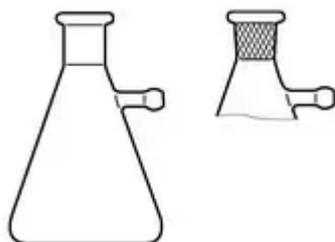


Рис. 1. Колба Бунзена

"быстрой") размерами $1,5 \times 15$ см; ступка с пестиком; чистая сухая колба Бунзена (рис. 1) с пробкой, в которую вставлен стеклянный фильтр; стеклянная палочка; насос Камовского (если есть в лаборатории); вазелин; стеклянные бюксы (2 шт.); стеклянный цилиндр или большая пробирка высотой 20 – 25 см с хорошо

подобранной корковой пробкой с проволочным крючком; цветные карандаши.

Ход работы

1. Измельченные свежие листья поместить в ступку, добавить немного CaCO_3 и кварцевого песка или толченого стекла и растереть, постепенно приливая ацетон (на 2 – 3 г материала около 25 мл ацетона).

2. Полученный раствор профильтровать через стеклянный фильтр в чистую сухую колбу Бунзена, отсасывая насосом. При отсутствии насоса провести обычное фильтрование. ***Операцию проводить в вытяжном шкафу с соблюдением мер противопожарной безопасности!***

3. Налить вытяжку в бюкс и погрузить в нее кончик полоски, вырезанной из фильтровальной бумаги. Через несколько секунд, когда вытяжка поднимется по бумаге на 1 – 1,5 см, высушить бумагу на воздухе и снова погрузить в раствор пигментов на несколько секунд. Эту операцию повторять 5 – 7 раз до тех пор, пока у верхней границы распространения пигментов на бумаге не образуется темно-зеленая полоска. После этого погрузить кончик бумажной полоски на несколько секунд в чистый ацетон, чтобы все пигменты поднялись на 1 – 1,5 см.

4. Высушив полоску до полного исчезновения запаха ацетона, поместить ее в вертикальном положении в цилиндр, на дно которого налит петролейный эфир. Полоску нужно подвесить на крючок так, чтобы в растворитель был погружен только неокрашенный конец, и чтобы она не касалась стенок сосуда. В связи с тем что пигменты разрушаются на свету, разделение следует проводить в темноте или при слабом освещении.

Через 10 – 15 мин растворитель поднимется на 10 – 12 см. При этом пигменты расположатся в определенном порядке.

Задание

Зарисовать полученную хроматограмму, определить на хроматограмме где и какие пигменты располагаются, сделать вывод о причинах разделения пигментов на бумаге.

Лабораторная работа 1.3. Оптические свойства хлорофилла

Основное свойство хлорофилла – его способность поглощать световую энергию, причем свет поглощается хлорофиллом избирательно. В этом можно убедиться, пропуская белый свет через раствор хлорофилла, а затем разлагая его при помощи призмы. Отдельные участки спектра окажутся поглощенными, и на их месте будут видны темные полосы. Полученный спектр называется спектром поглощения.

Сопоставляя спектры поглощения растворов разной концентрации (или одного и того же раствора, но при разной толщине слоя), можно установить степень поглощения отдельных лучей: чем слабее поглощается данный участок спектра, тем более концентрированным нужно взять раствор, чтобы добиться исчезновения этого участка в спектре поглощения. Наиболее сильно поглощаемые лучи можно определить по полосам в спектре поглощения очень разбавленного раствора, тогда как наименее поглощаемые лучи проходят даже через довольно концентрированный раствор.

Хлорофилл обладает и другим оптическим свойством – флюоресценцией, возникающей при поглощении света. Это явление объясняется переходом молекул хлорофилла из возбужденного состояния в нормальное. Флюоресценция – признак фотохимической активности хлорофилла.

Цель работы

Изучить оптические свойства водных растворов хлорофилла.

Материалы и оборудование

Концентрированная спиртовая или ацетоновая вытяжка пигментов зеленого листа; раствор каротина (бензиновая вытяжка корнеплода моркови); раствор ксантофилла, полученный при разделении пигментов по Краусу; спирт или ацетон; спектроскоп; настольная лампа; штатив с двумя лапками; штатив с пробирками (7 шт.); пипетки градуированные на 5 – 10 мл (2 шт.); кусок черной бумаги или черной материи; цветные карандаши.

Ход работы

Провести опыты по наблюдению следующих явлений.

I. Спектры поглощения пигментов

1. Направить спектроскоп на источник света. Отрегулировать ширину щели на конце трубы спектроскопа так, чтобы спектр получился четкий и достаточно яркий (при слишком широкой щели спектр получается размытый, нечистый, при очень узкой щели освещенность спектра недостаточна).

2. Налить исследуемый раствор в пробирку и закрепить ее в лапке штатива перед щелью спектроскопа. Изучить спектры погло-

щения растворов хлорофилла разной концентрации, разбавляя вытяжку из зеленого листа в отношениях 1:1, 1:3, 1:5, 1:15. Для сравнения рассмотреть спектр бензиновой вытяжки из корнеплода моркови, содержащей каротин, и спиртовой раствор ксантофилла, полученный при разделении пигментов по Краусу.

3. Зарисовать спектры по форме, приведенной в таблице (Ф, С, Г, З, Ж, О, К – фиолетовый, синий, голубой, зеленый, желтый, оранжевый и красный цвета спектра соответственно), причем поглощенные участки закрасить черным карандашом, а видимые участки – цветными.

Растворы	Спектр						
Хлорофилла							
1:15							
1:5							
1:3							
1:1							
Концентрированный							
каротина							
ксантофилла							

II. Флюоресценция хлорофилла

Рассмотреть вытяжку пигментов в отраженном свете, для чего поместить пробирку на черном фоне у окна или у электролампы и рассмотреть со стороны, откуда падает свет. Отметить окраску раствора и записать вывод о способности хлорофилла к флюоресценции.

Задание

Оформить результаты наблюдений в соответствии с рекомендациями по настоящей работе, ответить на следующие предлагаемые вопросы.

1. Какие лучи поглощаются хлорофиллом наиболее сильно?
2. Какие участки спектра поглощаются хлорофиллом наиболее слабо?
3. Какие лучи поглощают желтые пигменты?

Лабораторное занятие 2. *Изучение процесса фотосинтеза*

Лабораторная работа 2.1. *Обнаружение крахмала в листьях растений как одного из продуктов фотосинтеза*

Одним из основных продуктов, образующихся при биохимических реакциях в ходе фотосинтеза в зеленых растениях, является крахмал. Нахождение крахмала легко выявляется йодовой пробой. С помощью данной лабораторной работы, требующей для получения окончательного результата несколько суток, можно доказать факт образования крахмала в ходе фотосинтетических реакций. Непосредственно на лабораторной работе необходимо подготовить все для получения окончательных результатов, которые снимают через несколько суток.

Для опыта необходимо брать растения, накапливающие в процессе ассимиляции крахмал. Для этой цели, например, малопригодны злаки, так как некоторые из них накапливают, главным образом, растворимые углеводы и гемицеллюлозы.

Для изготовления крахмальных отпечатков летом лучше всего брать такие растения, как настурция (например, *Tropaeolum majus*), кукуруза (*Zea saccharata*); худшие результаты дают подсолнечник (*Helianthus annuus*), клещевина (*Ricinus communis*) и другие масличные культуры. Зимой в качестве объектов для эксперимента придется воспользоваться комнатными растениями.

Цель работы

Освоить методику получения из растительных тканей основных растительных пигментов и их разделения, изучить некоторые свойства данных соединений.

Материалы и оборудование

Растение, выдержанное в темноте (определяет для каждой бригады (студента) преподаватель): например, пеларгонию зональную (*Pelargonium zonale*), или близкие другие виды – зимой; примулу (*Primula obconica*), гортензию (*Hydrangea hortensis*) – весной; этиловый спирт; раствор J в KJ; соляная кислота (10 %-ная); спиртовка;

фарфоровая чашка; стакан или колбочка для листа; чашечка для мрамора; стеклянный колпак; водяная баня; треножник для бани; ножницы; пинцет; пробирка; мрамор кусочками; плотный картон, фольга или черная плотная светонепроницаемая бумага; проволочные скрепки для бумаги или булавки; спички.

Ход работы

Лабораторная работа рассчитана на два занятия.

1. Минимум за 3 – 4 дня (лучше неделю) экспериментальные растения обильно полить и поставить в темное теплое место либо затенить один или несколько листьев, не отрезая их от растения. При выдерживании в темноте листья постепенно теряют крахмал, который будет тратиться в процессе дыхания, роста и отчасти отводиться в запас в другие органы растения. Растение выдерживается в темноте до полного обескрахмаливания листьев.

2. Сделать пробу на содержание в листьях крахмала. Для этого от листа отрезать маленький кусочек, положить его в пробирку, залить водой и прокипятить. После кипячения воду необходимо слить, прилить в пробирку спирт и кипятить до тех пор, пока весь хлорофилл не будет извлечен и кусочек листа не станет белым (кипятят в спирту на водяной бане).

3. После этого спирт слить, лист опустить в горячую воду и обработать раствором КJ. Сделать выводы о наличии или отсутствии в листьях крахмала. При наличии положительной крахмальной пробы (в листьях присутствует крахмал) растения еще необходимо минимум несколько дней выдержать в темноте.

4. После проведения крахмальной пробы при отсутствии крахмала в листьях приступают непосредственно к эксперименту. Опыт ставят или с целым растением, или с отрезанными листьями (по указанию преподавателя). И в том и в другом случае листья покрывают с нижней и верхней сторон непрозрачным экраном (которым могут служить темная плотная бумага, тонкая папка, фольга, пробковые пластинки) с вырезанными на нем различными фигурами (рис. 2). Фигуры верхнего и нижнего экранов должны совпадать. Для прикрепления экрана к листу можно употреблять тонкие булавки (для пробковых пластинок) или проволочные скрепки (для бумаги).

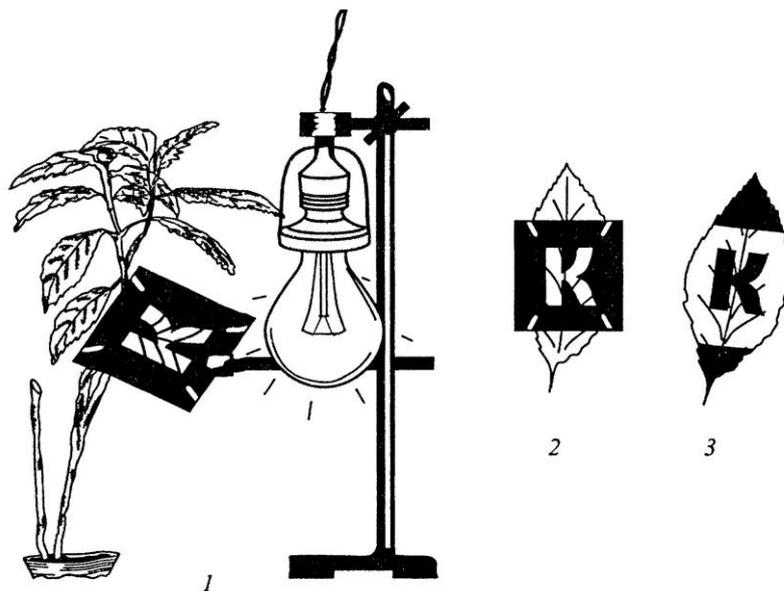


Рис. 2. Опыт по выявлению крахмала, образующегося в листьях растений на свету [2]: 1 – освещенное растение; 2 – лист, закрытый трафаретом; 3 – отпечаток (крахмальная проба) на листе

Если опыт ведут с отделенными листьями, то отрезанный и покрытый экраном лист ставят в стакан с водой (черешок предварительно подрезают под водой, чтобы лучше шло всасывание) и покрывают стеклянным колпаком. Для создания более благоприятных условий в плане повышения содержания углекислого газа и влажности под колпак можно поставить маленькую чашечку с кусочками мрамора или содой, которые обливают 10%-ным раствором HCl или слабой H_2SO_4 , и плоскую чашечку с водой.

Подготовленные листья (или растения) выставляют на яркий солнечный или электрический свет. В зависимости от силы источника света опыт будет длиться от 40 мин до 24 ч.

По истечении времени освещения (например, на следующем занятии), листья подвергают той же обработке, как и при испытании листа на отсутствие крахмала (обесцвечивание листа производят в колбочке). Когда лист будет обесцвечен, его вынимают из колбочки пинцетом, кладут в белую фарфоровую чашку (тарелочку), осторожно расправляют и обливают раствором J в KJ .

При правильном выполнении работы те участки листа, которые были освещены, окрасятся от йода в синий цвет, а затененные – в желтый.

Задание

Зарисовать или сфотографировать результаты опыта (по указанию преподавателя). Привести уравнения химических реакций, проведенных в опыте: образование крахмала из глюкозы, взаимодействие крахмала с йодом и др.

Лабораторная работа 2.2. Выделение кислорода водными растениями

Обнаружить фотосинтез у водных растений можно по пузырькам кислорода, который выделяется в процессе фотосинтеза. Данные опыты проводились уже во второй половине XVIII века швейцарскими естествоиспытателями Шарлем Бонне и Жаном Сенебье.

Цель работы

Доказать наличие фотохимических реакций, протекающих на свету у водных растений.

Материалы и оборудование

Два стеклянных сосуда; две воронки; водопроводная вода; прокипяченная и остуженная вода в закрытом сосуде; 0,5% раствор гидрокарбоната натрия, приготовленный на этой воде; термометр; пробирки; спички; лучинки; светильник с электрической лампой мощностью 75 – 95 Вт; скальпель или лезвия безопасной бритвы; водные (аквариумные) растения: элодея (*Elodea canadensis*), валлиснерия (*Vallisneria spiralis*), роголистник (*Ceratophyllum demersum*).

Ход работы

1. В один сосуд налить прокипяченную воду (вода без CO₂), в другой – 0,5%-ный раствор гидрокарбоната натрия. Температура всех жидкостей в опыте должна составлять 25 – 30 °С.

2. Отобрать заранее подготовленные здоровые растения (вид указывает преподаватель). Одно растение поместить в стакан с прокипяченной водой, второе – в стакан с растворенным гидрокарбонатом натрия. В обоих стаканах закрыть растения стеклянными воронками, обращенными широкой стороной ко дну стакана (лучше, если носики воронок будут ниже уровня воды в стаканах). Заполнить до самого верха пробирки указанными в п. 1 растворами. Закрыв про-

бирки пальцем большой руки (чтобы не выливался раствор), опрокинуть их поочередно вверх дном и надеть на носики воронок (наилучший результат получается, если перевернутые пробирки надевать на воронки, находящиеся ниже верхнего уровня воды в стакане). При неудачной попытке повторить эту процедуру снова, добившись того, чтобы в перевернутой пробирке в верхней части не было вообще воздуха (рис. 3).

3. Сосуды с растениями установить под яркий свет (электрическую лампу или солнечный свет).

4. Через некоторое время в одной из пробирок под действием выделяющегося из водного растения газа вода начнет вытесняться из пробирки. После того как перевернутая пробирка освободится от воды на $1/3 - 1/2$ своего объема, поднять ее не переворачивая (раствор при этом стечет в стакан) и ввести в верхнюю часть пробирки зажженную лучину. Отметить, что произойдет с пламенем лучины.

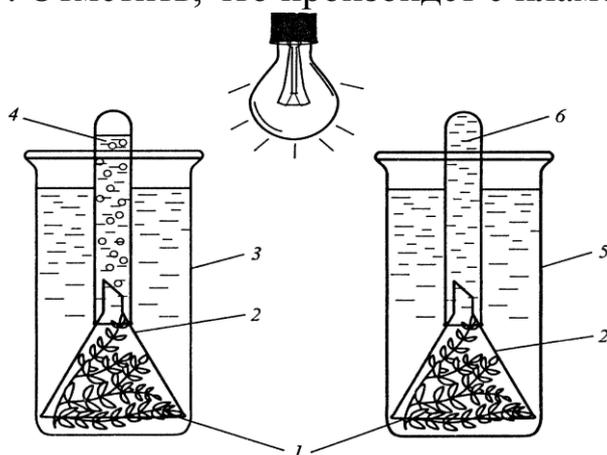


Рис. 3. Влияние углекислого газа на выделение кислорода водными растениями [5]: 1 – элодея; 2 – воронки; 3 – сосуд с раствором соды; 4 – пробирка с раствором соды; 5 – сосуд с прокипяченной водой; 6 – пробирка с прокипяченной водой

Задание

Отметить в каком растворе отмечается выделение пузырьков газа, время заполнения $1/3$ или $1/2$ (по заданию преподавателя). Сделать вывод о свойствах выделяющегося газа. В выводах к работе объяснить с точки зрения теории фотосинтеза, почему в одном растворе отмечались фотохимические реакции, а в другом нет.

Лабораторное занятие 3. *Изучение процесса фотосинтеза*

Лабораторная работа 3.1. *Обнаружение выделенного при фотосинтезе O₂ с помощью метиленового синего*

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

В основе данного эксперимента лежит свойство метиленового синего давать бесцветное соединение при воздействии восстановителя Na₂SO₃ и переходить снова в окрашенное соединение при воздействии окислителей H₂O₂ или O₂.

Цель работы

Доказать, что растение на свету выделяет O₂, с помощью метиленового синего.

Материалы и оборудование

Высокие пробирки или цилиндры; концентрированный раствор метиленового синего в спирте; насыщенный раствор Na₂SO₃; 3%-ный раствор H₂O₂; электрическая лампа мощностью 100 Вт; водные (аквариумные) растения: элодея (*Elodea canadensis*), валлиснерия (*Vallisneria spiralis*), роголистник (*Ceratophyllum demersum*).

Ход работы

1. В три пробирки налить водопроводную воду и подкрасить метиленовым синим до ярко-голубой окраски. Температура растворов – 25 – 30 °С. Затем добавить по каплям (!) Na₂SO₃ до обесцвечивания всех трех растворов.

2. Во вторую пробирку добавить пероксид водорода до изменения цвета снова в ярко-голубой.

3. В третью пробирку поместить водное растение (вид указывает преподаватель).

4. Все пробирки выставить на свет (от электрической лампы или яркий солнечный) и наблюдать за тем, как изменяется в них цвет раствора.

Задание

Сделать заключение об изменении окраски в пробирках по окончании эксперимента, зарисовать опыт.

Лабораторная работа 3.2. Влияние внешних условий на интенсивность фотосинтеза водного растения

Для определения интенсивности фотосинтеза водных растений можно использовать метод счета пузырьков кислорода. На свету в листьях происходит фотосинтез, продуктом которого является кислород, накапливающийся в межклетниках. При срезании стебля избыток газа начинает выделяться с поверхности среза в виде непрерывного тока пузырьков, быстрота образования которых зависит от интенсивности фотосинтеза. Данный метод не отличается большой точностью, но зато очень прост и дает наглядное представление о тесной зависимости процесса фотосинтеза от внешних условий.

Цель работы

Изучить особенности влияния некоторых факторов окружающей среды на интенсивность фотосинтеза у водных растений.

Материалы и оборудование

Стеклянная емкость с помещенной в нее элодеей (*Elodea canadensis*); сода двууглекислая; 1%-ный раствор двуххромовокислого калия; 4%-ный раствор медного купороса, насыщенный аммиаком; кювета; пинцет длинный; лезвие безопасной бритвы или скальпель; пробирка, вставленная в колбочку, или специальный сосуд со стоком внизу (в последнем случае сосуд закрепляют в чугунном штативе (рис. 4); осветитель с источником света, эквивалентным лампам накаливания мощностью 100 – 200 Вт; песочные часы на 1 – 3 мин или секундомер; электроплитка; холодильник бытовой для продуктов; термометр; колбы (3 шт.); линейка; спектроскоп в штативе; пробирки (2 шт.).

Ход работы

1. Поместить веточку элодеи с неповрежденной верхушечной почкой в кювету с водой и обновить срез острой бритвой или скальпелем для устранения возможной закупорки путей при выходе газа.

2. Погрузить веточку срезом вверх в пробирку с водой, предварительно обогащенной диоксидом углерода путем растворения небольшого количества соды (перед погружением веточки внести в пробирку на кончике ножа NaHCO_3 и взболтать).

3. Поместив пробирку с веточкой элодеи в стеклянный цилиндр или специальную стеклянную емкость (см. рис. 4), создать условия, приведенные ниже в пп. „а” – „в”). Используя в качестве источника света осветитель с лампой, подождать, пока установится равномерный ток пузырьков, перевернуть песочные часы (включить секундомер) и подсчитать количество пузырьков, выделенных за определенное время.

а) *Определить влияние освещенности на интенсивность фотосинтеза.* Для этого налить воду с температурой около 20° С в колбу или в стеклянный цилиндр и ввести в этот сосуд пробирку с веточкой элодеи. Подсчитать количество пузырьков кислорода при разных расстояниях от источника света. Данные занести в таблицу (см. п. 4).

б) *Определить влияние спектрального состава света на интенсивность фотосинтеза.* Для этого подсчитать количество пузырьков при освещении белым светом (пробирка погружена в сосуд с водой), красным, оранжевым и желтым частями спектра (заменяя воду в наружном сосуде раствором $K_2Cr_2O_7$), сине-фиолетовой частью видимого спектра (наливая в наружный сосуд раствор серно-аммиачно-медной соли). Все три наблюдения провести с жидкостями одинаковой температуры и на одном и том же расстоянии от источника света.

Вместо жидких экранов можно использовать стеклянные или пластиковые светофильтры, пропускающие лучи определенной длины волны.

в) *Определение влияния температуры на интенсивность фотосинтеза.* Для этого налить в наружный сосуд сначала теплую (30 – 40 °С), а затем холодную воду (10 – 15 °С) и провести отсчеты при одинаковом расстоянии от источника света.

4. Результаты записать в таблицу.

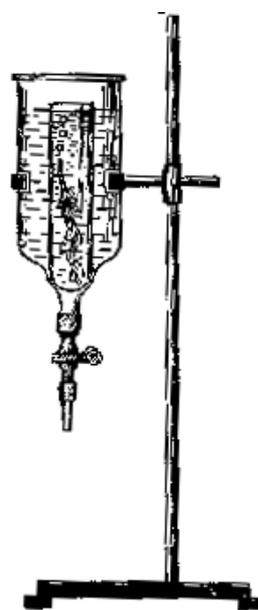


Рис. 4. Установка для оценки интенсивности фотосинтеза методом счета пузырьков [1]

Расстояние от источника света, см	Спектральный состав облучаемого света	Температура, °С	Количество пузырьков O ₂ за 5 мин
5	Белый	20	
10	"-	20	
15	"-	20	
20	"-	20	
5	Белый	20	
5	Красный	20	
5	Синий	20	
5	Белый	20	
5	"-	10	

Задание

В отчете сделать выводы о степени влияния исследованных факторов на интенсивность фотосинтеза.

Тема 2. ДЫХАНИЕ У РАСТЕНИЙ

Лабораторное занятие 4. *Определение интенсивности дыхания*

Лабораторная работа 4.1. *Определение интенсивности дыхания по количеству выделенного диоксида углерода (по Бойсен-Иенсену)*

Определение интенсивности дыхания данным методом основано на учете количества CO₂, выделяемого при дыхании растением, находящимся в замкнутом сосуде. За определенный промежуток времени углекислый газ поглощается известным объемом раствора щелочи. Ее избыток титруют соляной кислотой. Учет начального объема CO₂ проводят в таком же замкнутом пространстве, например, по методу Бойсен-Иенсена.

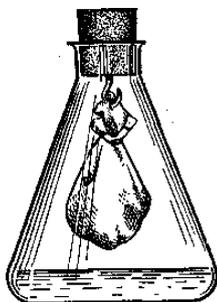


Рис. 5. Колба для определения интенсивности дыхания по методу Бойсен-Иенсена [1]

В основе данного метода лежит использование конических колб, в которые помещают препараты и химические реагенты (рис. 5).

Продолжительность экспозиции в колбах зависит от размера навески и

интенсивности дыхания исследуемого объекта. При очень короткой экспозиции разность между результатами титрования контрольной и опытной колб будет незначительной и, наоборот, если в колбе останется слишком мало барита, то может произойти неполное поглощение CO_2 . Желательно поэтому подобрать такую экспозицию, чтобы на связывание углекислого газа было израсходовано около 20 – 50 % щелочи (если, например, на титрование барита в контрольной колбе пошло 10 мл HCl , то на титрование раствора в опытной колбе должно пойти не более 8 и не менее 5 мл).

Цель работы

Познакомиться с методом определения интенсивности дыхания растений по методу Бойсен-Иенсена. Определить значение интенсивности дыхания какой-либо части растительного организма.

Материалы и оборудование

Проросшие и непроросшие семена, почки, листья, стебли, цветки и другой растительный материал (определяет для каждой группы (студента) преподаватель); 0,025 н. раствор $\text{Ba}(\text{OH})_2$ в бутылки, соединенной с бюреткой; бутылка и бюретка закрыты пробками, в которые вставлены трубки с натронной известью; 0,025 н. HCl в бюретке с приспособлением для титрования; фенолфталеин в капельнице; технические весы (с диапазоном взвешивания до 500 г); одинаковые конические колбы на 250 – 300 мл с резиновыми пробками, в которые вставлены металлические крючки (3 шт.); куски марли размерами 10×10 см (2 шт.); стакан с водой.

Ход работы

1. Поместить навеску исследуемого материала (5 – 10 г) в марлевый мешочек и прикрепить его к пробке при помощи крючка, вставленного в пробку.

2. Провести пробную сборку установки, проверив, свободно ли проходит мешочек с материалом через горло колбы и не будет ли он опускаться слишком низко, касаясь раствора щелочи, после ее помещения в колбу. Внести в колбу 2 – 3 капли фенолфталеина и налить 10 мл раствора $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Быстро опустить в колбу материал, слегка смочить пробку водой (для герметичности) и плотно (вращательным движением) закрыть колбу пробкой. Записать время начала экспозиции.

В качестве растительного материала в две колбы поместить разные части одного и того же растения, например листья и стебли, или проросшие и непроросшие семена и т. п.

3. В контрольную (пустую) колбу также налить 10 мл барита и 2 – 3 капли фенолфталеина, плотно закрыть пробкой. Колбы с объектами, содержащими хлорофилл, необходимо на все время опыта поместить в темноту для исключения процесса фотосинтеза!

4. Время от времени (через каждые 5 – 10 мин) колбы следует осторожно покачивать, чтобы разрушить пленку BaCO_3 , препятствующую полноте поглощения CO_2 , не допуская попадания ни одной капли раствора на мешочек с материалом.

5. Через 1 – 2 ч вынуть материал, быстро закрыть колбу пробкой

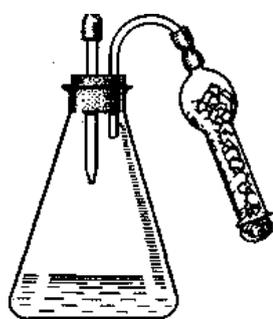


Рис. 6. Приспособление для титрования раствора барита: справа стеклянный сосуд с трубкой, наполненный натронной известью [1]

и отметить время окончания опыта. Оттитровать оставшуюся щелочь, приливая через отверстие в пробке 0,025 н. HCl до исчезновения розового оттенка. Чтобы избежать уменьшения концентрации раствора барита из-за поглощения CO_2 воздуха, следует провести титрование, закрыв колбу резиновой пробкой с двумя отверстиями, одно из которых закрыто трубкой с натронной известью, другое – с плотно вставленным концом бюретки (рис. 6).

Контрольную колбу можно титровать через 20 мин после того, как налит раствор барита (за это время колбу необходимо периодически взбалтывать).

Результаты занести в таблицу.

Объект	Масса навески, г	Объем $\text{Ba}(\text{OH})_2$, мл	Время			Расход при титровании, мл		Поправка к титру HCl	Интенсивность дыхания, мг/(г·ч)
			Начало	Завершение	Экспозиция, ч	Контроль	Опыт		

Интенсивность дыхания – *И.д.* (мл/(г · ч)) вычисляют по формуле

$$И.д. = \frac{0,55K(NCl_k - NCl_{оп})}{P \cdot t}, \quad (1)$$

где NCl_k – объем 0,1 н. HCl, пошедший на титрование избытка $Ba(OH)_2$ в контрольной колбе, мл; $NCl_{оп}$ – объем 0,1 н. HCl, пошедший на титрование избытка $Ba(OH)_2$ в опытной колбе, мл; P – масса навески, г; t – время, ч; K – поправочный коэффициент к титру HCl; 0,55 – количество HCl мг, эквивалентное 1 мл 0,025 н. раствора HCl.

Задание

Сделать вывод о величине интенсивности дыхания для изучаемых биологических объектов.

Лабораторная работа 4.2. Определение дыхательного коэффициента маслянистых семян

Дыхательным коэффициентом называется отношение объема выделенного при дыхании диоксида углерода к объему поглощенного кислорода. Величина дыхательного коэффициента зависит, прежде всего, от того, какие вещества используются при дыхании (являются дыхательным субстратом). При окислении сахаров отношение CO_2/O_2 близко к единице. Если дыхательным материалом служат вещества более окисленные, чем углеводы (например, щавелевая кислота), то величина дыхательного коэффициента будет больше единицы. Наконец, этот коэффициент будет меньше единицы, если используются соединения менее окисленные, чем углеводы, например жиры.

Для ориентировочного определения дыхательного коэффициента можно использовать несложную методику, предполагающую использование градуировочной трубки, соединенной с пробиркой, в которую помещается исследуемый биологический материал (рис. 7).

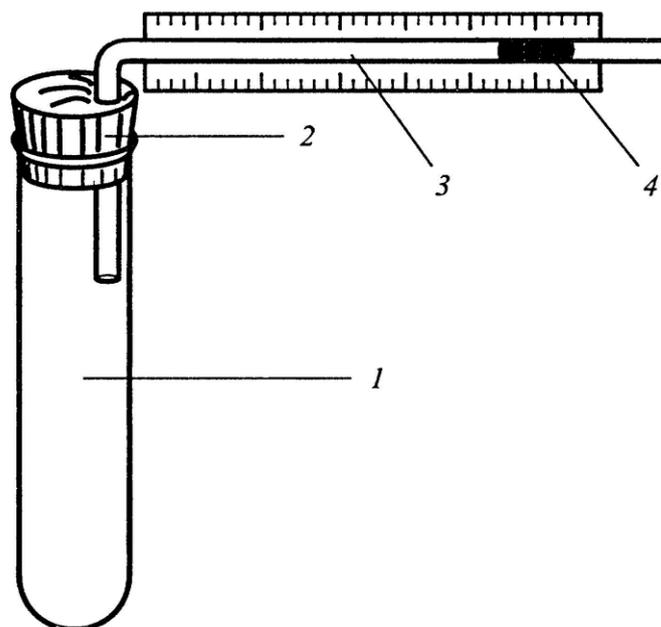


Рис. 7. Устройство для определения количества поглощаемого O_2 и выделяемого CO_2 [5]: 1 – пробирка; 2 – резиновая пробка; 3 – трубка с измерительной шкалой; 4 – капля окрашенной воды

В первой части опыта в градуированную трубку вводится капля жидкости, закупоривающая ее. Если объемы обмениваемых при дыхании газов равны, то капля в трубке передвигаться не будет. Если же величина дыхательного коэффициента меньше или больше единицы, то будет наблюдаться перемещение жидкости в трубке, соответствующее разности между объемами поглощенного O_2 и выделенного CO_2 .

Во второй части опыта вводят в пробирку с тем же биологическим материалом крепкий раствор щелочи для поглощения выделяемого при дыхании CO_2 . Наблюдающееся при этом передвижение капли в трубке соответствует объему поглощенного материалом кислорода. По разнице двух полученных значений в первой и во второй частях опыта можно вычислить дыхательный коэффициент.

Например. Пусть объем поглощенного кислорода равен O_2 , мл, объем выделенного диоксида углерода – CO_2 , мл. Тогда расстояние, пройденное каплей в капилляре, будет пропорционально разнице объемов поглощенного кислорода и выделенного углекислого газа: $l_1 = O_2 - CO_2$. Расстояние, пройденное каплей во втором опыте – l_2 , будет пропорционально объему поглощенного кислорода ($l_2 = O_2$).

Следовательно, объем выделенного углекислого газа составит $CO_2 = l_1 - l_2$. Подставив полученные выражения в формулу для расчета дыхательного коэффициента, получим $CO_2/O_2 = (l_2 - l_1) / l_2$.

Цель работы

Количественно оценить особенности дыхательного процесса (дыхательный коэффициент) у частей растения с различными химическими составами.

Материалы и оборудование

Проклюнувшиеся семена клещевины (*Ricinus communis*), подсолнечника (*Helianthus annuus*), или пшеницы (*Triticum aestivum*); 20%-ный раствор КОН; вода, подкрашенная метиленовой синей; пробирка с хорошо пригнанной резиновой пробкой, в которую вставлена изогнутая под прямым углом тонкая стеклянная трубка; горизонтальное колено трубки градуируют, прикрепляя к ней при помощи резиновых колечек полоску миллиметровой бумаги; высокий (по длине пробирки) стакан с ватой, в которой сделано углубление для пробирки; фарфоровая чашечка; пинцет; песочные часы на 5 мин или секундомер; пипетка с оттянутым концом; полоски фильтровальной бумаги 2 × 6 см; стакан с водой.

Ход работы

1. Перед определением дыхательного коэффициента маслянистых семян необходимо исследовать баланс CO_2 и O_2 объекта, богатого углеводами. Для этого необходимо насыпать в пробирку (примерно до половины) проклюнувшиеся семена пшеницы и плотно (вращательным движением) вставить пробку с градуированной трубкой, предварительно слегка смочив пробку водой. Дать пробирке остыть от прикосновения рук и поставить ее в стакан с ватой. Ввести в трубку каплю воды, подкрашенной метиленовой синей, при помощи пипетки с оттянутым концом. Наблюдать в течение нескольких минут за каплей в трубке и убедиться в том, что ее положение не меняется.

2. Высыпать из пробирки семена пшеницы, поместить в нее проклюнувшиеся семена клещевины или подсолнечника, собрать установку, поставить пробирку в стакан с ватой и ввести в трубку каплю подкрашенной воды.

3. Когда капля оторвется от края трубки, отметить положение внутреннего мениска капли, перевернуть песочные часы (засечь время по секундомеру) и после 5 мин экспозиции сделать второй отсчет,

а еще через такой же интервал времени – третий отсчет. Вычислить среднее расстояние, пройденное каплей за 5 мин, которое соответствует разности между объемами поглощенного кислорода и выделенного диоксида углерода (l_1).

4. Вынуть пробку из пробирки с семенами, проветрить пробирку и вложить пинцетом в верхнюю её часть свернутую в кольцо полоску фильтровальной бумаги, смоченную 20%-ным раствором щелочи (смачивать полоску умеренно, держа ее над фарфоровой чашкой, чтобы во время опыта щелочь с бумажки не попала на семена). Закрывать пробирку пробкой и вновь ввести в трубку каплю воды, подкрашенную краской. Отметить положение мениска капли, определить передвижение капли за три пятиминутных интервала и вычислить среднюю величину пройденного каплей расстояния (l_2).

5. Результаты записать в таблицу.

Объект	Положение мениска, мм						Расстояние, пройденное каплей за 5 мин, мм						CO ₂ /O ₂	
	без щелочи			со щелочью			без щелочи (l_1)			со щелочью (l_2)				
	1	2	3	1	2	3	1	2	Среднее	1	2	Среднее		

Рассчитать по следующей формуле величину дыхательного коэффициента:

$$ДК = (l_2 - l_1) / l_2, \quad (2)$$

где ДК – дыхательный коэффициент; l_1 – среднее арифметическое значение расстояния, пройденного каплей в первой части опыта (п. 3); l_2 – среднее арифметическое значение расстояния, пройденного во второй части опыта (п. 4).

Задание

На основании полученного значения дыхательного коэффициента сделать вывод о химической природе дыхательного субстрата биологического объекта (материала), используемого в опыте. Теоретически рассчитать дыхательный коэффициент при окислении до CO₂ и H₂O какого-либо жира (задание выдает преподаватель). Сопоставить полученные экспериментальные и теоретические значения.

Работу удобно проводить на двух срезах исследуемой части растения, нанося на первый срез раствор гваяковой смолы, на второй – растворы гваяковой смолы и пероксида водорода: посинение первого среза свидетельствует о присутствии в клетках полифенолоксидазы, тогда как посинение второго среза есть результат совместного действия двух ферментов – полифенолоксидазы и пероксидазы или – в случае отсутствия в данном объекте первого фермента – одной пероксидазы (показатель присутствия обоих ферментов – более быстрое посинение второго среза).

Цель работы

Познакомиться с простыми реакциями обнаружения некоторых ферментов дыхания: пероксидазы и полифенолоксидазы.

Материалы и оборудование

Клубни картофеля (*Solanum tuberosum*) – свежие и вареные; побеги конского каштана (*Aesculus hippocastanum*), дуба (*Quercus robur*), и других древесных растений, корни хрена (*Armoracia rusticana*) и редьки (*Raphanus sativus*); 1%-ный спиртовой раствор гваяковой смолы в капельнице; 3%-ный раствор H_2O_2 в капельнице; скальпель или лезвия безопасной бритвы; пинцет; электроплитка; тарелка (фарфоровая чашка); стаканы (2 шт.); фильтровальная бумага.

Ход работы

1. Поместить на тарелку две части (разрезанные корни или побеги растений) исследуемого объекта и облить обе части одновременно раствором гваяковой смолы, причем второй срез дополнительно обработать каплей раствора пероксида водорода. Для контроля обработать таким же образом материал, предварительно подвергнутый кипячению.

2. Исследовать несколько объектов, не допуская при этом попадания сока из одного объекта на срез другого (скальпель, используемый для разрезания исследуемых объектов, необходимо каждый раз мыть и вытирать, соблюдая осторожность!).

3. Результаты записать в таблицу, отмечая время появления синей окраски (в секундах или минутах).

Объект	Посинение (с) при действии	
	гваяковой смолы	гваяковой смолы+ H_2O_2
Живые ткани		
Ткани, убитые кипячением		

Задание

В выводах указать наличие или отсутствие в исследуемых объектах полифенолоксидазы и пероксидазы и ориентировочно оценить активность этих ферментов (полифенолоксидазы – по посинению 1-го среза, пероксидазы – по разности скоростей посинения 2-го и 1-го срезов).

Лабораторная работа 5.2. Качественная реакция с тетразолием на общую дегидрогеназную активность тканей

Метод обнаружения дегидрогеназ основан на том, что соли тетразолия при восстановлении меняют свою окраску: в окисленном состоянии они бесцветны, а в восстановленном – окрашены. Дегидрогеназы – ферменты, катализирующие дегидрирование дыхательного субстрата. Дыхательный субстрат является донором водорода. Активированный дегидрогеназами водород дыхательного субстрата передается ими на другой фермент – переносчик водорода. Этот фермент передает водород дальше следующему ферменту – акцептору водорода – и так далее по дыхательной цепи. Соли тетразолия, в силу того что они имеют низкий окислительно-восстановительный потенциал, способны перехватывать водород, становясь его акцепторами. Чем больше имеется в тканях восстановленных дегидрогеназ, тем больше молекул тетразолия может восстановиться.

Восстановленные формы солей тетразолия – формазазы – представляют собой интенсивно окрашенные соединения. Формазазы не окисляются вновь на воздухе, что делает их незаменимыми в гистохимии. В данной работе используется трифенилтетразолий хлористый (ТТХ).

Цель работы

Сравнить по общей дегидрогеназной активности функционально разные ткани растения.

Материалы и оборудование

Микроскоп; предметные и покровные стекла; часовые стекла или чашки Петри; лезвие безопасной бритвы или скальпель; термостат на 30 – 35 °С; 0,1%-ный раствор трифенилтетразолия хлористого; приготовленный на 0,87%-ном водном растворе K_2HPO_4 ; проклюнувшиеся и набухшие семена кукурузы (*Zea saccharata*), подсолнечника (*Helianthus annuus*), фасоли (*Phaseolus vulgaris*).

Ход работы

1. В часовое стекло (чашки Петри) с небольшим количеством раствора ТТХ (2 – 3 мл) поместить срезы, сделанные с семян. Толщина срезов должна быть 0,5 – 1 мм. При наличии в тканях активных дегидрогеназ спустя 30 – 60 мин на срезах появляется окрашивание. Для ускорения окрашивания срезы можно поместить в термостат с температурой 30 – 35 °С. По интенсивности окраски делают сравнительную оценку дегидрогеназной активности разных тканей.

Для уверенности, что окраска обусловлена активностью ферментов, необходимо ставить контроль со срезами, в которых ферменты инактивированы. Для этого срезы кипятят в воде 2 – 3 мин, эти убитые срезы используют в тех же реакциях, что и живые.

2. После образования окраски в срезах их надо рассмотреть под лупой или микроскопом при малом увеличении и установить локализацию дегидрогеназной активности в тканях.

3. Сделать рисунки живых и убитых срезов.

Задание

Провести изучение дегидрогеназной активности указанных преподавателем тканей растений. Сделать выводы о дегидрогеназной активности исследуемых объектов (о величине дегидрогеназной активности отдельных тканей можно судить также по скорости появления в них окраски, обусловленной формазаном: там, где окраска появляется раньше, там и самая высокая активность этих ферментов). Выводы к данной лабораторной работе проиллюстрировать изображениями полученных срезов и их окраски, наблюдавшейся в ходе опытов.

Лабораторная работа 5.3. *Определение активности каталазы*

Каталаза в клетках выполняет функцию обезвреживания очень активного и потому опасного для живых клеток окислителя – пероксида водорода, катализируя реакцию $2\text{H}_2\text{O}_2 = 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. Этот фермент особенно активен в молодых растущих тканях. Он активен также в зеленых листьях, где участвует в процессе фотодыхания у C_3 -растений. Для количественного определения активности каталазы можно использовать газометрический метод.

Цель работы

Обнаружение активности каталазы в тканях растений газометрическим методом.

Материалы и оборудование

Лупа; предметные и часовые стекла или чашки Петри; лезвие безопасной бритвы или скальпель; спиртовка или газовая горелка; 5%-ный раствор пероксида водорода; проростки кукурузы (*Zea saccharata*), бобов (*Vicia faba*), тыквы (*Cucurbita pepo*), листья элодеи (*Elodea canadensis*).

Ход работы

1. Вид растений, используемых для опытов, задает преподаватель. С проростков сделать срезы толщиной 0,5 – 1 мм, а с побегов элодеи оторвать отдельные листья.

2. Часть срезов и листьев необходимо убить, нагревая их в капле воды на предметном стекле над пламенем спиртовки.

3. Живые и убитые срезы и листья поместить в воду на часовое стекло и добавить несколько капель раствора пероксида водорода. Под лупой можно наблюдать появление пузырьков газа у поверхности живых срезов и листьев. Это выделяется кислород в результате разложения пероксида под воздействием каталазы. Отмечают отсутствие пузырьков у убитых объектов.

Задание

Сделать выводы о наличии активности каталазы в живых тканях и мертвых тканях.

Тема 3. РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ

Лабораторное занятие 6. *Изучение ростовых процессов у растений под влиянием внешних и внутренних факторов*

Лабораторная работа 6.1. *Влияние гетероауксина на динамику ростового процесса у корней*

Рост и развитие растений в значительной степени определяются особыми веществами, получившими название фитогормонов. Концентрация как отдельного фитогормона, так и комплексное воздействие нескольких веществ данного типа могут оказывать самые разнообразные эффекты от ускорения ростовых процессов, до полного торможения развития растительного организма.

Одной из достаточно хорошо исследованных групп фитогормонов являются ауксины. В малых концентрациях эти вещества стимулируют рост, а в больших, наоборот, оказывают тормозящее воздействие.

Данная лабораторная работа поможет убедиться в биологическом действии одного из представителей упомянутой группы – гетероауксина ($C_{10}H_9O_2N$).

Цель работы

Познакомиться с действием на растения гетероауксина. Определить концентрации данного вещества, оказывающие стимулирующее и тормозящее на рост растения действие.

Материалы и оборудование

Семена пшеницы (*Triticum aestivum*), ржи (*Secale cereale*), ячменя (*Hordéum vulgare*), овса (*Avena sativa*), подсолнечника (*Helianthus annuus*); 0,01%-ный раствор гетероауксина; дистиллированная вода; термостат; колба; чашки Петри (5 шт.); пипетка градуировочная на 10 мл (2 шт.) и на 1 мл (1 шт.); клей ПВА; бумага писчая; линейка с миллиметровыми делениями.

Ход работы

1. Снабдить 5 чашек этикетками. Налить в них растворы гетероауксина разной концентрации:

в первую чашку – 10 мл 0,01%-ного раствора;

во вторую – 1 мл 0,01%-ного раствора и 10 мл дистиллированной воды;

в третью – 1 мл раствора гетероауксина из второй чашки и 10 мл дистиллированной воды;

в четвертую чашку – 1 мл раствора гетероауксина из третьей чашки и 10 мл дистиллированной воды;

в пятую чашку – 10 мл дистиллированной воды.

2. Поместить в каждую чашку по 10 семян одного из видов растения (определяет преподаватель для каждой бригады или студента), закрыть крышками и поставить в термостат (температура среды 22 – 25 °С) или иное теплое темное место.

3. Через 5 – 7 дней измерить длину корешков всех проростков и занести полученные данные в таблицу.

Номер чашки	Концентрация гетероауксина, %	Длина корешков каждого растения, мм	Средняя длина корешков, мм
1			
2			
3			
4			
5			

Задание

Рассчитать концентрацию гетероауксина в каждой чашке. На основе простейшей статистической обработки результатов измерений сделать выводы о значениях концентраций, при которых оказывается стимулирующее и тормозящее воздействие на рост корней. Для этого найти доверительные интервалы для средних значений в каждом опыте (уровень значимости 0,05) и с учетом их проанализировать результаты.

Лабораторная работа 6.2. Оценка динамики развития растений под воздействием различных концентраций тяжелых металлов

Так называемые тяжелые металлы (химические элементы с атомными массами более 50) при высоких концентрациях в почве являются классическими фитотоксикантами: веществами и химическими элементами, оказывающими угнетающее воздействие на процессы жизнедеятельности растений, т.е. опасными для растительного организма.

В условиях антропогенного или естественного загрязнения почвы тяжелыми металлами актуальной задачей является определение критических значений концентраций, при которых проявляются негативные эффекты для растений с целью решения конкретных задач (сельскохозяйственного, лесоводческого, природоохранного или другого характера).

Например, в природоохранной деятельности нашло, хотя и ограниченное, применение так называемое биотестирование. Под биотестированием (с некоторой долей упрощения) можно понимать изучение воздействия каких-либо факторов на живые организмы, в частности, растения, в специально созданных, смоделированных условиях.

С помощью биотестирования растениями можно оценивать состояние почвенного покрова с точки зрения степени его загрязнения, например, тяжелыми металлами или опасными органическими соединениями.

В данной лабораторной работе предлагается с помощью упрощенной методики (полная система исследований изложена в государственном стандарте [2]) определить токсичные для растения концентрации некоторых тяжелых элементов, способных попадать в почву в составе загрязнителей антропогенной природы.

Цель работы

Определить пороговые концентрации токсического действия на растение (тест-объект) некоторых тяжелых металлов.

Материалы и оборудование

Семена кресс-салата (*Lepidium sativum*) или горчицы белой (*Sinapis alba*); пластиковые или стеклянные стаканы (банки) вместимостью 200 – 500 мл (5 шт.); соли нитратов тяжелых металлов: цинка, свинца, никеля, кадмия, серебра; чашка Петри; фильтровальная бумага; дистиллированная вода; термостат; почвенная смесь (приобретают в магазине или готовят самостоятельно: 68 % просеянного песка средних фракций, 20 % белой глины (каолина, бентонита и т.д.); 10 % сфагнового торфа; 2 % карбоната кальция); писчая бумага, клей ПВА или скотч.

Ход работы

1. За 3 – 4 дня до начала опыта положить 10 – 20 семян исследуемого растения на сырую вату или фильтровальную бумагу в чашки Петри, закрыть стеклянной крышкой и поместить их в термостат с температурой 22 – 25 °С. В начале лабораторной работы определить всхожесть семян (результаты указать в отчете).

2. Подготовить растворы солей одного из тяжелых металлов (определяет преподаватель для бригады или студента) в концентрациях иона заданного металла: 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} моль на литр.

3. Подготовить пять сосудов (пластиковые или стеклянные баночки), заполнив их почвой одного типа и свойств.

4. В увлажненной почве (поливается исследуемым раствором) сделать лунки глубиной 5 – 10 мм (по 10 лунок в каждом сосуде), в которые поместить по одному семени растения, после чего почву тщательно выровнять и повторно увлажнить исследуемым раствором до полного насыщения. Баночки накрыть пленкой или стеклянными пластинами.

5. Оформить и прикрепить соответствующие этикетки на вегетационные сосуды, после чего их установить на подоконник в один ряд или люминодат (если имеется). По возможности в течение следующего опыта стараться обеспечить температуру воздуха в помещении, где находятся сосуды с растениями, в диапазоне 22 – 25 °С.

6. На 3 – 4-й день, после появления всходов снять пленку с баночек (убрать стеклянные пластины), далее регулярно в течение 10 – 14 дней

(срок определяет преподаватель) должен осуществляться полив почвы (всходов растений) растворами солей нитратов соответствующих концентраций (пятый вегетационный сосуд – контрольный – поливают водопроводной водой).

7. На 3, 6, 9-й и завершающий день опыта проводится подсчет появившихся всходов.

8. На 10 – 14-й день опыта провести анализ состояния растений, данные занести в таблицу, после чего провести срезание надземных частей растения (на уровне почвы) во всех пяти вегетационных сосудах.

9. Определить массы отдельных растений в каждом сосуде и рассчитать среднее значение массы растений для каждого опыта и границы доверительного интервала при уровне значимости 0,05 для средней.

Показатель	Концентрация иона тяжелого металла в растворе для полива моль/л				Контроль
	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	
Число растений на момент завершения опыта					
Сырая масса вегетативных частей растений, г					
Среднее значение сырой массы, г					
Границы доверительного интервала для среднего значения					

Задание

Привести данные по всхожести семян турнепса, построить графики динамики появления всходов для пяти вариантов опыта. Сделать выводы о степени токсичности исследуемых концентраций, высказать гипотезы относительно объяснения полученных результатов.

Тема 4. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ

Лабораторное занятие 7. *Влияние высоких и низких температур на физиологические процессы и состояние растений*

Лабораторная работа 7.1. *Защитное действие сахара на цитоплазму при замораживании*

Отрицательные температуры являются в большинстве случаев опасным экологическим фактором, представляющим угрозу для отдельных органов и растения в целом. Основной повреждающий фактор – льдообразование в межклеточном пространстве тканей растений. Образующийся лед является высоко осмотически активным компонентом, интенсивно выкачивающим воду из клеток и приводящим их к обезвоживанию и, как возможное следствие, коагуляции цитоплазмы. Кроме того, образование льда при кристаллизации сопровождается увеличением объема, что приводит к сдавливанию цитоплазмы клетки, сопровождающемуся повреждением органоидов и клеточной стенки.

О степени повреждения цитоплазмы можно судить по ее способности удерживать клеточный сок.

В живой природе (у растений и животных) в ходе эволюции выработался целый комплекс приспособлений, направленных на уменьшение негативного эффекта от отрицательных температур окружающей среды. Одно из них – существенное повышение к началу неблагоприятного периода (например, зимнего) так называемых криопротекторов, т.е. веществ (преимущественно органической природы), обеспечивающих понижение температуры замерзания водных растворов в тканях и клетках растений, повышение устойчивости коллоидов клетки.

Цель работы

Познакомиться с защитным действием сахаров в случае воздействия на клетки растений отрицательных температур.

Материалы и оборудование

Корнеплод красной свеклы (*Beta vulgaris*); 1,0 и 0,5 М растворы сахарозы; 8%-ный раствор NaCl в капельнице; снег или лед (помещают в кастрюлю или тазик) или бытовой холодильник с морозильной камерой (в этом случае следующие два элемента не нужны); соль по-

варенная; лопатка для перемешивания снега; термометр, обеспечивающий возможность измерения температур до $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$; скальпель или лезвие безопасной бритвы; фарфоровая чашка; пробирки с резиновыми колечками (3 шт.); стакан; микроскоп; предметные и покровные стекла; кисточка; карандаш по стеклу; кусочки фильтровальной бумаги.

Ход работы

1. Из очищенного корнеплода красной свеклы сделать 12 – 15 одинаковых по размеру не очень тонких срезов (толщина примерно 1 мм). Поместить срезы в фарфоровую чашку и тщательно промыть водой для удаления сока, вытекшего из поврежденных клеток.

2. Перенести по 4 – 5 срезов в 3 пробирки, снабженные этикетками. В 1-ю пробирку налить примерно $1/4$ от ее объема воды, во 2-ю – столько же 0,5 М раствора сахарозы, в 3-ю – 1,0 М раствора сахарозы.

3. Приготовить охлаждающую смесь: к 3 частям снега или битого льда добавить 1 часть поваренной соли и тщательно перемешать (температура должна быть около $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Погрузить все пробирки в охлаждающую смесь на 15 – 20 мин, после чего поставить в стакан с водой комнатной температуры. При отсутствии охлаждающей смеси можно воспользоваться морозильной камерой бытового холодильника, предварительно измерив температуру в ней.

4. После оттаивания отметить окраску жидкости в пробирках и окраску срезов. Проверить жизнеспособность клеток, подвергнув их плазмолизу в 8%-ном растворе NaCl (количество плазмолизированных клеток определяется с помощью микроскопа глазомерно). Результаты занести в таблицу.

Вариант	Окраска наружного раствора	Окраска среза	Количество плазмолизированных клеток, %
Вода Сахароза 0,5 М Сахароза 1,0 М			

Задание

Объяснить различия между вариантами и механизм защитного действия сахарозы для цитоплазмы клеток при воздействии отрицательных температур.

Лабораторная работа 7.2. *Определение жаростойкости растений* (по Ф. Ф. Мацкову)

Повышенные (превышающие диапазон оптимальных для конкретного растительного организма) температуры представляют для растений не меньшую опасность, чем отрицательные, поскольку приводят к коагуляции цитоплазмы, нарушению проницаемости мембран и многим другим неблагоприятным физиологическим процессам.

Если подвергнуть лист действию высокой температуры, а затем погрузить в слабый раствор соляной кислоты, то поврежденные и мертвые клетки побуреют вследствие свободного проникновения в них кислоты, которая вызовет превращение хлорофилла в феофитин, тогда как неповрежденные клетки останутся зелеными. Однако надо иметь в виду, что у растений с кислым клеточным соком феофитинизация может произойти и без обработки соляной кислотой, так как при нарушении полупроницаемости тонопласта органические кислоты проникают из клеточного сока в цитоплазму и вытесняют магний из молекулы хлорофилла.

С помощью описанного выше несложного метода можно оценить жаростойкость различных видов растений.

Цель работы

Оценить жаростойкость нескольких видов растений путем воздействия на их листовые пластины горячей воды.

Материалы и оборудование

Свежие листья каких-либо растений (виды для каждой бригады (студента) указывает преподаватель с учетом принадлежности их к различным экологическим группам); 0,2 н. HCl; водяная баня; подставка для водяной бани; газовая горелка; термометр; пинцет; чашки Петри (5 шт.); стакан; карандаш по стеклу.

Ход работы

1. Нагреть водяную баню до 40 °С, погрузить в нее по 5 листьев исследуемых растений и выдержать листья в воде в течение 30 мин, поддерживая температуру на уровне 40 °С.

2. Взять первую пробу: вынуть по одному листу каждого вида растений и поместить их в чашку Петри с холодной водой (на чашке необходимо сделать соответствующую надпись).

3. Поднять температуру в водяной бане до 50 °С, через 10 мин после этого извлечь из бани еще по одному листу и перенести их в новую чашку Петри с холодной водой.

4. Постепенно довести температуру до 80 °С, беря пробы через каждые 10 мин при повышении температуры на 10 °С (60, 70 и 80 °С).

Заменить воду в чашках 0,2 н. раствором соляной кислоты и через 20 мин учесть степень повреждения листа по площади появившихся бурых пятен (определяется глазомерно). Результаты записать в таблицу.

Объект	Доля повреждения (в % от всей площади листа) при t , °С				
	40	50	60	70	80

Задание

Сделать выводы о степени жаростойкости исследованных растений.

Лабораторная работа 7.3. Определение температурного порога коагуляции цитоплазмы (по П. А. Генкелю)

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

Цель работы

Получение значений температурного порога коагуляции цитоплазмы клеток растительного организма.

Материалы и оборудование

Свежие листья различных растений (виды указывает преподаватель для каждой бригады или студента); 1 М раствор сахарозы в капельнице; 0,02%-ный раствор нейтрального красного; стаканы химические большие (6 шт.); пробирки (5 шт.); большая колба; электро-

плитка или газовая горелка с треножником; термометр; лезвие бритвы или скальпель; препаровальная игла; кисточка; микроскоп; предметные и покровные стекла; кусочки фильтровальной бумаги; карандаш по стеклу.

Ход работы

1. Приготовить 12 срезов эпидермиса листа исследуемого растения и поместить по два среза в пробирки, в которые налито небольшое количество водопроводной воды.

2. Нагреть в большой колбе воду. Смешивая горячую воду с холодной, приготовить в шести химических стаканах водяные бани с температурой 48, 50, 52, 54, 56 и 58 °С (сделать на стаканах надписи карандашом по стеклу), одновременно погрузить в водяные бани пробирки со срезами, поддерживая установленную температуру путем осторожного подливания в стаканы горячей воды.

3. Через 10 мин извлечь срезы кисточкой из пробирок и перенести на предметные стекла, снабженные соответствующими надписями. Если клетки не содержат пигментов, следует окрасить их, выдержав в растворе нейтрального красного в течение 5 – 10 мин, затем отсосать раствор краски фильтровальной бумагой, нанести на срезы по капле 1М раствора сахарозы, закрыть покровными стеклами и через 15 – 20 мин рассмотреть в микроскоп.

4. Записать результаты в таблицу, обозначая знаком "+" плазмолиз и знаком "-" отсутствие плазмолиза.

Растение	Плазмолиз при температуре, °С												
	48		50		52		54		56		58		
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	

Задание

Сделать выводы о температурном пороге коагуляции белков цитоплазмы у исследуемых видов растений.

Лабораторное занятие 8. *Оценка солеустойчивости растений*

Лабораторная работа 8.1. *Определение солеустойчивости злаков по ростовым процессам*

Повышенные концентрации солей в почвенном растворе являются для большинства наземных растений крайне неблагоприятным фактором, оказывающим негативное воздействие на растения через нарушение водного баланса (например, затрудненное поступление воды через корневую систему), непосредственное токсическое действие солей на клетки и т.д.

Поэтому в условиях избыточной засоленности почвы часто снижается динамика ростовых процессов у растений. Особенно чувствительными оказываются семена многих растений, не относящихся к галофитам (солеустойчивым и солелюбивым) растениям. При определении солеустойчивости растений можно воспользоваться методом проращивания семян в среде с повышенной концентрацией солей. Показателем устойчивости в данном случае будет служить количество проросших семян (процент всхожести) в растворах соли по сравнению с дистиллированной водой (контрольный опыт).

Цель работы

Изучить влияние концентрации солей в водном растворе на всхожесть и энергию прорастания семян культурных растений, имеющих различную солеустойчивость.

Материалы и оборудование

Семена пшеницы (*Triticum aestivum*), ржи (*Secale cereale*), ячменя (*Hordéum vulgare*) или люцерны (*Medicago sativa*); раствор формалина или перманганата калия; 10%-ный раствор NaCl; чашки Петри (8 штук); марлевые мешочки; термостат.

Ход работы

1. Отобрать по 200 – 400 здоровых семян двух видов культурных растений (указывает преподаватель) одинаковых размеров. Отобранные семена поместить в марлевые мешочки с этикетками внутри и обработать раствором формалина (1 мл на 300 мл воды) или перманганата калия в течение 3 – 5 минут, слегка просушить.

2. Чашки Петри и фильтровальную бумагу прокалить в термостате при 150 °С в течение 1 ч (прокаливание можно заменить обра-

боткой чашек Петри и фильтровальной бумаги горячей водой на водяной бане при температуре 60 – 70 °С в течение 15 – 30 мин).

3. Разложить подготовленные семена по 25 – 50 семян в каждую чашку Петри. Для этого на дно подготовленных чашек Петри укладывают слой фильтровальной бумаги и в каждую чашку наливают 7 – 8 мл раствора соли, а для контрольного варианта – такой же объем дистиллированной воды.

На каждый вариант берут по четыре чашки.

4. Семена в чашках Петри поместить в термостат (температура среды около 22 °С) для проращивания. На дно термостата установить кювету с водой.

5. На третий день провести подсчет проросших семян в чашках Петри для определения энергии прорастания. Данные занести в таблицу.

Вид										
Повторность	1	2	3	4	Среднее	1	2	3	4	Среднее
Доля проросших семян от общего числа (опыт), %										
Доля проросших семян от общего числа, %										

6. Через неделю по окончании проращивания по каждому варианту определить число проросших семян (среднее из четырех повторностей). Число проросших семян в дистиллированной воде принять за 100 %, а число семян, проросших в растворах соли, вычислить в процентах от контроля. Экспериментальные данные занести в таблицу.

Вид (культура)	Число проросших семян в повторностях								Среднее (опыт)	Среднее (контроль)	Всхожесть (опыт), %
	Опыт				Контроль						
	1	2	3	4	1	2	3	4			

Задание

Указать энергию прорастания семян исследуемых видов. На основании полученных результатов сделать вывод о степени солеустойчивости исследуемых видов.

Лабораторная работа 8.2. Определение солеустойчивости растений по степени выцветания хлорофилла (по Генкелю)

При нарушении водного баланса растений под воздействием высоких концентраций солей в почве часто отмечается деструкция хлоропластов, нарушается синтез хлорофиллов. Определить солеустойчивость растений можно по скорости и степени выцветания хлорофилла. Под влиянием солей в результате разрушения хлорофилло-белково-липоидного комплекса происходит постепенное выцветание хлорофилла (изменение общей окраски листьев или появление бледных участков – солевых пятен, площадь которых за время опыта увеличивается). Чем больше площадь поврежденной листовой пластины (поверхности с измененной окраской), тем менее солеустойчиво исследуемое растение.

Цель работы

Исследовать влияние повышенных концентраций солей на состояние хлорофилла в листьях опытных растений.

Материалы и оборудование

Комнатные растения (виды указывает преподаватель); 2 – 4%-ный раствор NaCl или N_2SO_4 ; кристаллизатор; химические стаканы на 100 мл (8 шт.).

Ход работы

1. Взять по 8 листьев с двух-трех видов растений (определяет преподаватель для каждой бригады или студента), подрезать их под водой у основания черешка.

2. Контрольные листья (четыре листа) поместить черешками в водопроводную или кипяченую воду, опытные – в 2 – 4%-ный раствор NaCl или Na_2SO_4 . Выдержать листья на рассеянном свете семь суток.

3. Отметить изменение окраски листьев на третьи и седьмые сутки. Результаты опыта записать в таблицу.

Оценка состояния		Вид растения		
Описание изменения окраски, на день	3			
	7			
Средняя площадь (определяется визуально) депигментированной поверхности, на день	3			
	7			

Задание

Зарисовать состояние листовых пластин исследуемых видов на 3-й и 7-й дни, сделать вывод о степени солеустойчивости исследуемых видов, подтвердив его экспериментальными данными.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Инструкция по организации работы и охране труда при выполнении лабораторного практикума по физиологии растений

1. Общие требования безопасности

1.1. К выполнению лабораторных работ допускаются студенты, прошедшие первичный инструктаж по технике безопасности (ТБ) и ознакомленные с правилами пожарной безопасности (ПБ).

1.2. К работе в лаборатории не допускаются лица, имеющие медицинские противопоказания.

1.3. Выполнение лабораторных работ осуществляется студентами, одетыми в спецодежду (халат светлого цвета). Студенты, не одетые в спецодежду, к выполнению лабораторных работ не допускаются.

Запрещается находиться в помещении лаборатории в верхней одежде и оставлять ее в помещении вне специально отведенных мест.

1.4. В помещении лаборатории запрещается принимать пищу, загромождать лабораторные столы и проходы личными вещами: сумками, пакетами, крупногабаритными вещами.

1.5. На всех склянках и упаковках с химическими веществами, используемых для проведения опытов, должны быть четкие надписи с наименованием вещества и указанием его концентраций. При отсутствии надписей на емкостях с химреактивами их использование не разрешается.

1.6. Выполнять работы можно только на исправном оборудовании, при исправном состоянии электропроводки или газовых коммуникаций. В случае обнаружения неисправностей оборудования, устройств, коммуникаций, представляющих опасность для здоровья или жизни людей, немедленно сообщить преподавателю или лаборанту. Далее следовать в отношении выявленных опасностей их указаниям. В случае возникновения угрозы здоровью или жизни других людей из-за неисправности оборудования принять меры к обеспечению безопасности окружающих (ограничить доступ других к объекту опасности, сделать предупредительные надписи, установить понятные для окружающих знаки предупреждения об опасности).

1.7. В случае травмирования, появления признаков плохого самочувствия при выполнении лабораторных работ немедленно сообщить о случившемся преподавателю или лаборанту, далее действовать согласно их указаниям.

2. Требования безопасности перед началом работы

Перед началом выполнения работ студенты обязаны:

- изучить методические указания к выполняемой работе, четко уяснить порядок выполнения лабораторных работ, требования по безопасности при их выполнении;
- подготовить свое рабочее место согласно методическим указаниям по лабораторному практикуму;
- подготовить необходимые материалы, приборы, вещества, посуду, рационально разместить их на рабочем месте;
- проверить исправность электроприборов и электрооборудования, предохранительных и защитных приспособлений (целостность корпуса, отсутствие неизолированных токопроводящих элементов, надежность крепления устройств и т.д.);
- получить разрешение преподавателя, ведущего занятия, на выполнение работы.

3. Требования безопасности во время работы

3.1. Во время работы необходимо:

- выполнять только те опыты, которые предусмотрены планом проведения лабораторных работ и методическими указаниями по их выполнению;
- исследовать запах каких-либо веществ осторожно, не наклоняясь над емкостью с источником запаха и не вдыхая газ полностью, а направляя к себе пары газа легким движением руки;
- случайно пролитые кислоты или щелочи нейтрализовать содой или щавелевой кислотой, засыпать песком, а затем осуществить уборку этого места;
- при случайных проливах огнеопасных жидкостей немедленно выключить горелки и нагревательные приборы, место пролива жидкости засыпать песком; загрязненный песок собирать деревянной лопаткой (применение металлических и пластиковых лопат или совков запрещено!);
- большие химические стаканы и емкости с жидкостью поднимать и переносить только двумя руками. Запрещается переносить пустую и заполненную химическую посуду, держа ее за пробку;
- при нарушении целостности термометра и вытекании ртути немедленно сообщить о случившемся преподавателю или лаборанту,

далее следовать их указаниям (при незатрудненном доступе к объему разлитой ртути ее следует засыпать хлоридом железа (FeCl_3), а затем убрать с помощью совка);

- при работе с электроустановками и электрооборудованием убедиться перед каждым включением, что пуск их не угрожает опасностью окружающим людям или техническим системам;

- в случае возникновения неисправностей в электроприборах и оборудовании немедленно его обесточить (следует помнить, что после исчезновения напряжения на электроустановке оно может быть подано вновь без предупреждения.);

- подачу напряжения на электрооборудование и приборы осуществлять только после проверки электрических цепей преподавателем или лаборантом.

3.2. Во время работы категорически запрещается:

- все, без исключения, пробовать на вкус;

- во избежание нарушений целостности термометров (особенно ртутных) запрещается пользоваться ими для перемешивания растворов;

- использовать без защитных приспособлений при наблюдении за биологическими объектами и жидкостями прямые солнечные лучи или яркое электроосвещение, способное оказывать повреждающее действие на зрение;

- отлучаться и оставлять без наблюдения включенные электрообогревательные приборы в виде электроплиток, водоелектронагревателей, горящие газовые горелки и спиртовки.

3.3. Выполнение работ допускается только в случае, если выполняющий опыты знаком с правилами эксплуатации оборудования (приборов), на которых предстоит работать. В случае возникновения вопросов, связанных с особенностями эксплуатации приборов и оборудования, студент должен обратиться за консультациями к преподавателю или лаборанту.

4. Требования безопасности по окончании работ

По окончании работы необходимо:

- отключить все задействованные в работе электроприборы, осветительное и нагревательное оборудование, обязательно плотно закрыть вентили на трубах, подводящих газ к лабораторным столам;

- убрать свое рабочее место;

- вымыть посуду, удалить появившиеся в ходе лабораторных работ загрязнения с используемого оборудования и приборов;
- подлежащие сдаче приборы и неиспользованные реактивы сдать лаборанту.

5. Действия в нештатных (аварийных) ситуациях во время выполнения лабораторных работ

5.1. При возникновении аварийной ситуации (появлении запаха газа (меркаптана), разливе химических веществ, замыкании электропроводки, возгорании и т.д.) работающие в лаборатории обязаны:

- немедленно прекратить работу;
- в случае необходимости принять экстренные меры к предотвращению аварии (если авария создает угрозу для жизни других людей) или эвакуации из помещения;
- доложить о случившемся преподавателю (лаборанту) и далее действовать по его указанию (работа возобновляется только после проведения преподавателем (лаборантом) анализа возникновения аварийной ситуации и устранения её причин);
- при возникшей аварийной ситуации, угрожающей здоровью и жизни людей, инициирующей другие катастрофические чрезвычайные ситуации, незамедлительно проинформировать об этом службы экстренной помощи (службы спасения).

5.2. При несчастном случае:

а) оказать в случае необходимости пострадавшему первую доврачебную медицинскую помощь и принять меры по оказанию квалифицированной медицинской помощи (отправить пострадавшего в медпункт, медицинское учреждение, вызвать неотложную медицинскую помощь и т.д.);

б) о несчастном случае пострадавший или ближайший свидетель должен немедленно сообщить преподавателю или лаборанту, в случае отсутствия такой возможности – заведующему лабораториями или заведующему кафедрой;

в) при ранении острыми предметами или стеклом необходимо удалить осколки, выступающие из раны, смазать кожу вокруг раны йодом, наложить стерильную повязку и незамедлительно отправить пострадавшего в медпункт, в неотложных случаях принять все меры по остановке кровотечения до прибытия скорой медицинской помощи;

г) при ушибах и переломах создать пострадавшему покой и наложить на место ушиба холодный компресс, принять меры к доставке пострадавшего в медпункт или медицинское учреждение;

д) при отравлении газообразными веществами:

– немедленно вывести (вынести) пострадавшего на свежий воздух, а затем отправить в медпункт или ближайшее медицинское учреждение;

– при затрудненном дыхании освободить пострадавшего от стесняющей его одежды;

– при потере сознания (дать понюхать нашатырного спирта), принять энергичные меры к возвращению пострадавшего из бессознательного состояния;

– при остановке дыхания, немедленно вызвать скорую помощь, до ее прибытия принять экстренные меры реанимационного характера путем осуществления искусственного дыхания;

е) при термических ожогах:

– 1-й степени (покраснение кожных покровов) обожженное место интенсивно охладить холодной проточной водой, смазать спиртом, либо присыпать место двууглекислым натрием;

– 2-й степени (появление водянистых волдырей на кожных покровах) сделать примочки из раствора марганцовокислого калия;

– 3-й и 4-й степени (существенные повреждения кожных покровов вплоть до обугливания) пострадавшего следует немедленно отправить в медпункт (медицинское учреждение) или вызвать неотложную медицинскую помощь;

ж) при ожогах химическими веществами (в том числе кислотами, щелочами), пораженные участки кожи обработать 2%-ным раствором соды (при ожогах кислотой) или слабым раствором уксусной кислоты (при ожогах щелочью), при попадании в глаза щелочей или кислот глаза промыть большим количеством воды, затем немедленно обратиться за медицинской помощью в медицинское учреждение;

з) при поражении электрическим током:

– освободить пострадавшего от действия электрического тока путем быстрого отключения той части электроустановки, которой касается пострадавший;

– если отключить установку достаточно быстро нельзя, необходимо принять меры к освобождению пострадавшего от токоведущих

частей, к которым он прикасается (при этом оказывающий помощь должен следить за тем, чтобы самому не оказаться в контакте с токоведущей частью!);

– до оказания первой медицинской помощи уложить пострадавшего спиной на твердую поверхность, проверить, есть ли у него дыхание (определяется по подъему грудной клетки, зеркалом или каким-либо другим предметом), проверить, есть ли пульс на лучевой артерии у запястья или на самой артерии на переднебоковой поверхности шеи, выяснить состояние зрачка (узкий или широкий, широкий зрачок свидетельствует о резком ухудшении кровоснабжения мозга);

– вызвать скорую медицинскую помощь или доставить пострадавшего в медицинское учреждение (в зависимости от состояния пострадавшего);

– если пострадавший находится без сознания, но дышит, дать понюхать нашатырный спирт или какое-либо другое вещество с сильным запахом, после выведения из состояния обморока пострадавшего следует уложить в удобное положение и до прибытия врача обеспечить полный покой и доступ свежего воздуха, непрерывно наблюдая за дыханием и пульсом;

– если пострадавший не дышит или дышит судорожно, нужно немедленно снять с него все стесняющие части одежды, расстегнуть ворот, пояс, обеспечить доступ свежего воздуха, удалить из помещения лишних людей;

– при отсутствии дыхания и пульса проводить искусственное дыхание и массаж сердца до прибытия скорой медицинской помощи;

и) при потере сознания и обмороках невыясненной природы необходимо уложить пострадавшего на твердую ровную поверхность, проверить пульс и дыхание, далее в зависимости от ситуации (есть или нет дыхания и пульса) действовать по алгоритму, приведенному в предыдущем пункте.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Викторов, Д. П.* Малый практикум по физиологии растений / Д. П. Викторов. – М. : Высш.шк., 1969. – 120 с.
2. ГОСТ Р ИСО 22030-2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений. – М. : Стандартинформ, 2010. – 15 с.
3. *Гродзинский, А. М.* Краткий справочник по физиологии растений / А. М. Гродзинский, Д. М. Гродзинский. – Киев : Наук. думка, 1973. – 592 с.
4. 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.
5. 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.
6. Практикум по физиологии растений / Н. Н. Третьяков, Т. В. Карнаухова, Л. А. Паничкин [и др.]. – М. : Агропромиздат, 1990. – 271 с.
7. Практикум по физиологии растений / Ф. Д. Сказкин, Е. И. Ловчиновский, Т. А. Красносельская [и др.]. – М. : Сов. наука, 1953. – 321 с.
8. *Шилина, И. А.* Методические разработки по физиологии растений для студентов IV курса / И. А. Шилина, В. Н. Балихина. – Владимир, 1979. – 38 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
<i>ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ</i>	5
Тема 1. <i>Фотосинтез</i>	5
Лабораторное занятие 1. Получение пигментов из растительных тканей.....	5
Лабораторная работа 1.1. Пигменты зеленого листа	5
Лабораторная работа 1.2. Разделение пигментов методом бумажной хроматографии.....	8
Лабораторная работа 1.3. Оптические свойства хлорофилла	9
Лабораторное занятие 2. Изучение процесса фотосинтеза.....	12
Лабораторная работа 2.1. Обнаружение крахмала в листьях растений как одного из продуктов фотосинтеза.....	12
Лабораторная работа 2.2. Выделение кислорода водными растениями	15
Лабораторное занятие 3. Изучение процесса фотосинтеза.....	17
Лабораторная работа 3.1. Обнаружение выделенного при фотосинтезе O ₂ с помощью метиленового синего	17
Лабораторная работа 3.2. Влияние внешних условий на интенсивность фотосинтеза водного растения	18
Тема 2. <i>Дыхание у растений</i>	20
Лабораторное занятие 4. Определение интенсивности дыхания.....	20
Лабораторная работа 4.1. Определение интенсивности дыхания по количеству выделенного диоксида углерода (по Бойсен-Иенсену).....	20
Лабораторная работа 4.2. Определение дыхательного коэффициента маслянистых семян	
Лабораторное занятие 5. Изучение ферментов системы дыхания.....	27
Лабораторная работа 5.1. Обнаружение полифенолоксидазы и пероксидазы.....	27
Лабораторная работа 5.2. Качественная реакция с тетразолием на общую дегидрогеназную активность тканей	29
Лабораторная работа 5.3. Определение активности каталазы ...	31

Тема 3. <i>Рост и развитие растений</i>	32
Лабораторное занятие 6. Изучение ростовых процессов у растений под влиянием внешних и внутренних факторов	32
Лабораторная работа 6.1. Влияние гетероауксина на динамику ростового процесса у корней	32
Лабораторная работа 6.2. Оценка динамики развития растений под воздействием различных концентраций тяжелых металлов	34
Тема 4. <i>Физиологические основы устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды</i>	37
Лабораторное занятие 7. Влияние высоких и низких температур на физиологические процессы и состояние растений	37
Лабораторная работа 7.1. Защитное действие сахара на цитоплазму при замораживании.....	37
Лабораторная работа 7.2. Определение жаростойкости растений (по Ф. Ф. Мацкову).....	39
Лабораторная работа 7.3. Определение температурного порога коагуляции цитоплазмы (по П. А. Генкелю).....	40
Лабораторное занятие 8. Оценка солеустойчивости растений.....	42
Лабораторная работа 8.1. Определение солеустойчивости злаков по ростовым процессам.....	42
Лабораторная работа 8.2. Определение солеустойчивости растений по степени выцветания хлорофилла (по Генкелю).....	44
Приложение.....	46
Библиографический список.....	52

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. С. Цикало

Подписано в печать 14.02.14.
Формат 60×84/16. Усл. печ. л. 3,25. Тираж 50 экз.
Заказ
Издательство
Владимирского государственного университета
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых.
600000, Владимир, ул. Горького, 87.