

Министерство образования Республики Беларусь
Учреждение образования «Барановичский государственный университет»

Д. С. Мороз

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

Методические рекомендации
к лабораторным занятиям практикума
«Физиология и биохимия растений»
для студентов инженерного факультета
специальности 1-74 02 01 Агронмия

Барановичи
БарГУ
2019

УДК 581.1(075.8)
ББК 28.57я73-5
М80

Рецензенты:

старший преподаватель кафедры технического обеспечения сельскохозяйственного производства и агрономии, кандидат биологических наук *К. В. Земоглядчук*;
доцент кафедры естественнонаучных дисциплин, кандидат биологических наук, доцент
С. К. Рындевич

Мороз, Д. С.

М80 Физиология и биохимия растений : метод. рекомендации к лаб. занятиям практикума «Физиология и биохимия растений» для студентов инженер. фак. специальности 1-74 02 01 Агрономия / Д. С. Мороз ; М-во образования Респ. Беларусь, Баранович. гос. ун-т. — Барановичи : БарГУ, 2019. — 52 с.
ISBN 978-985-498-879-5

Издание включает в себя лабораторные работы по курсу «Физиология и биохимия растений» и входит в состав учебно-методического комплекса по данной дисциплине.

Предназначено для студентов инженерного факультета, обучающихся по специальности 1-74 02 01 «Агрономия» в дневной форме получения образования.

УДК 581.1(075.8)
ББК 28.57я73-5

От

Учебное издание

Мороз Диана Сергеевна

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

Методические рекомендации к лабораторным занятиям практикума
«Физиология и биохимия растений» для студентов
инженерного факультета специальности 1-74 02 01 Агрономия

Ответственный за выпуск С. А. Березнюк
Техническое редактирование А. Д. Уваровой
Компьютерная верстка А. Д. Уваровой
Корректор А. Д. Уварова

Подписано в печать 02.08.2019. Формат 60 × 84 ¹/₁₆. Бумага офсетная.

Отпечатано на копировально-множительной технике.
Усл. печ. л. 3,00. Уч.-изд. л. 2,15. Тираж 30 экз. Заказ 364.

Учреждение образования «Барановичский государственный университет»

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/424 от 09.09.2016.

Ул. Войкова, 21, 225404, г. Барановичи. Тел. 8 (0163) 45 46 28, e-mail: rig@barsu.by .

ISBN 978-985-498-879-5

© БарГУ, 2019

ПРЕДИСЛОВИЕ

Изучение дисциплины «Физиология и биохимия растений» предполагает не только теоретическое изучение химического строения и функционирования растительного организма, но и проверку полученных знаний экспериментальным путем, что осуществляется в ходе лабораторных работ. Помимо этого, студенты осваивают основные приемы проведения экспериментальных исследований, получают навыки работы в лаборатории с биологическими объектами, самостоятельно анализируют полученные результаты и делают выводы.

Методические рекомендации содержат краткие теоретические данные по каждой теме и подробные инструкции по выполнению лабораторных работ. В настоящем издании представлено 18 лабораторных работ.

Работа выполняется бригадой из трех-четырех студентов (3-4 бригады в подгруппе), что позволяет вести исследование на многих объектах или при разных условиях. Полученные результаты заносятся в сводную таблицу, анализируются и обобщаются, делаются выводы.

Каждая работа оформляется в рабочей тетради студента по следующему плану: дата, название работы, теоретическое пояснение, основные этапы, результаты и их анализ, выводы.

Форма отчетности по выполненным работам определяется преподавателем.

1 СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Лабораторная работа 1

Физико-химические свойства цитоплазмы растительной клетки

Работа 1 Проницаемость цитоплазмы

Вводные пояснения

Одно из важнейших свойств цитоплазмы — избирательная проницаемость. Живая цитоплазма не окрашивается рядом витальных красителей, поскольку они свободно через нее проходят и накапливаются в вакуоли, окрашивая клеточный сок. Если окраску приобретает сама цитоплазма, это свидетельствует об изменениях нативной структуры ее белков вследствие гибели или повреждения клетки. В свою очередь вещества, содержащиеся в цитоплазме, свободно выходят наружу. По интенсивности выхода веществ можно судить о степени повреждения клеток. Например, из клеточного сока тканей корнеплода свеклы выходит пигмент бетацианин. Он содержится в клеточном соке, хорошо растворим в воде, но поскольку имеет довольно крупную молекулу, не способен пройти через тонопласт. Таким образом, чтобы попасть во внешнюю среду, данный пигмент должен преодолеть несколько барьеров: тонопласт, матрикс цитоплазмы и плазматическую мембрану. Однако при воздействии веществ или факторов, увеличивающих проницаемость мембран (спирты, органические кислоты), возможна диффузия бетацианина из вакуоли во внешнюю среду. В итоге по изменению оптической плотности можно оценить степень воздействия различных факторов на проницаемость мембран.

Цель работы: определить влияние различных факторов на проницаемость клеточных мембран для бетацианина по его выходу в наружный раствор.

Материалы и оборудование: *столовая свекла, хлороформ, 30 %-й раствор уксусной кислоты, 50 %-й раствор спирта, штативы с 5 пробирками, конические колбы, сверла, линейки, пипетки на 10 мл, плитка, фотоколориметр или спектрофотометр.*

Ход работы

1. Очистить корнеплод, взять куски цилиндрической формы с помощью сверла диаметром 0,7-0,8 см, разрезать на куски одинаковой длины (1—4 см) с помощью скальпеля.

2. Тщательно промыть под проточной водой, поместить по одному в 5 пробирок.

3. В каждую пробирку добавить 10 мл раствора в соответствии со схемой опыта: водопроводная вода, водопроводная вода после кипячения (кусочек свеклы предварительно кипятят в течение 2 мин, затем охлаждают под проточной водой), водопроводная вода + 6 капель хлороформа, 30 %-й раствор уксусной кислоты, 50 %-й раствор спирта.

4. Через 30—60 мин после начала опыта все пробирки интенсивно встряхнуть, извлечь кусочки свеклы.

5. Сравнить количество вышедшего из клеток пигмента с помощью ФЭК (синий светофильтр) или СФ (532 нм), результаты записать в таблицу (рис. 1).

6. По материалам наблюдений сделать выводы о степени повреждения цитоплазмы.

Т а б л и ц а _ — Влияние различных факторов на проницаемость мембран клеток свеклы

| Вариант опыта | Контроль | После кипячения | Вода + 6 капель хлороформа | 30 %-й раствор уксусной кислоты | 50 %-й раствор спирта |
|--------------------------------|----------|-----------------|----------------------------|---------------------------------|-----------------------|
| Интенсивность окраски раствора | | | | | |

Рисунок 1 — Образец таблицы для заполнения

Работа 2 Определение жизнеспособности семян по окрашиванию цитоплазмы

Вводные пояснения

Живая цитоплазма не окрашивается рядом красителей, в то время как у мертвой ткани сродство цитоплазмы к красителям увеличивается. На этом свойстве цитоплазмы основаны методы определения жизнеспособности семян: жизнеспособными считаются те семена, зародыш которых не окрашивается. Для семян бобовых, конопли, тыквенных используется метод Нелюбова, основанный на окрашивании проросших семян 0,2 %-м раствором индигокармина. Для зерновых — метод Иванова, по окрашиванию проростков 0,1 %-м индигокармином или 0,2 %-м раствором кислого фуксина. К жизнеспособным относят семена, зародыши которых имеют неокрашенные корешки и слабоокрашенные семядоли. Полностью окрашенные проростки являются нежизнеспособными.

Цель работы: определить жизнеспособность зерновок пшеницы (семян гороха) по окрашиванию цитоплазмы красителем.

Материалы и оборудование: семена гороха или пшеницы, 0,2 %-й и 0,1 %-й растворы индигокармина или 0,2 %-й раствор кислого фуксина, бюксы, пинцеты, фильтровальная бумага, лезвия, препаровальные иглы.

Ход работы

1. Метод Нелюбова

1.1. 10—15 семян гороха, намоченных на 18 ч, освободить от семенной оболочки, поместить в 0,2 %-й раствор индигокармина на 2—3 ч при 30 °С.

1.2. Краску слить, а семена промыть.

1.3. Зарисовать семена и установить их жизнеспособность.

1.4. Вычислить процент жизнеспособных семян.

2. Метод Иванова

2.1. Десять зерновок пшеницы, предварительно намоченных в течение 10 ч при комнатной температуре, разрезать бритвой вдоль бороздки пополам.

2.2. Поместить на 15 мин в 0,2 %-й раствор кислого фуксина или 0,1 %-й раствор индигокармина в стаканчик или бюкс.

2.3. Краску слить, семена разложить на фильтровальной бумаге и определить их жизнеспособность.

2.4. Зарисовать и сделать выводы.

Лабораторная работа 2

Химический состав растительной клетки: сахара и липиды

Работа 1 Общие свойства углеводов

Вводные пояснения

Углеводы составляют до 85—90 % сухой массы растений. Это основные питательные и структурные материалы клетки. Общая формула углеводов выглядит следующим образом: $C_n(H_2O)_m$. Все углеводы разделяют на две группы — моносахариды и полисахариды. Несколько молекул моносахаридов, соединяясь между собой с выделением молекулы воды, образуют молекулу полисахарида.

Качественные реакции углеводов позволяют определить их наличие в растворе и обуславливаются наличием гидрокси- и кетогрупп.

Цель работы: изучить химические свойства углеводов, проведя качественные реакции на различные типы углеводов.

Материалы и оборудование: 1 %-е растворы глюкозы, фруктозы, ксилозы, мальтозы, сахарозы, 10 %-й раствор гидроксида натрия, 1 %-й раствор крахмала, 5 %-й раствор сульфата меди, 0,2 %-й раствор альфа-нафтола в этиловом спирте, насыщенный ацетат, 1 %-я уксусная кислота, 5 %-й раствор уксуснокислой меди и натрия (5 г ацетата меди и 5 г ацетата натрия в 100 мл раствора уксусной кислоты), серная и хлорная концентрированные кислоты, реактив Люголя (1 г йода и 2,5 г йодированного калия в 20 мл воды), реактив Селиванова (0,05 г резорцина в 100 мл 18 %-й хлорной кислоты), раствор орицина (0,2 г орицина в 100 мл 30 %-го раствора хлорной кислоты, содержащей 0,1 г хлорного железа), пипетки, горелка, бюретка градуированная на 25 мл, баня водяная.

Ход работы

1. Реакция Троммера

1.1. В 5 пробирок налить по 1 мл 1 %-го раствора глюкозы, фруктозы, ксилозы, мальтозы, сахарозы.

1.2. В каждую пробирку добавить по 1 мл раствора гидроксида натрия.

1.3. К смеси прибавлять по каплям 5 %-й раствор сульфата меди, постоянно встряхивая, до появления не исчезающего осадка гидроксида меди.

1.4. Осторожно нагреть верхнюю часть содержимого на газовой горелке: желтое окрашивание, переходящее в красное, указывает на положительную реакцию.

2. Реакция с уксусной медью

2.1. В 4 пробирки взять по 1 мл глюкозы, ксилозы, мальтозы, сахарозы.

2.2. Добавить по 1 мл двойной смеси уксусной меди и натрия.

2.3. Нагреть верхнюю часть содержимого на газовой горелке: желтое окрашивание, переходящее в красное, указывает на положительную реакцию.

3. Реакция Молиша

3.1. В пробирку набрать 1 мл раствора углевода и добавить 5 капель раствора альфа-нафтола, взболтать.

3.2. По стенкам пробирки осторожно добавить 1 мл концентрированной серной кислоты: на границе образуется кольцо красно-фиолетового цвета.

4. Реакция Селиванова на кетозы

4.1. К 3 мл раствора Селиванова добавить по 3 капли раствора фруктозы и глюкозы (в разные пробирки).

4.2. Поставить на 8 мин на водяную баню при 80 °С до появления красного окрашивания.

5. Обнаружение крахмала

5.1. К 2 мл раствора крахмала прибавить 2-3 капли раствора Люголя.

5.2. Отобрать 1 мл раствора и прибавить 1-2 мл 10 %-го раствора NaOH.

5.3. Оставшуюся часть нагреть. Наблюдать за изменением окраски.

6. Кислотный гидролиз олиго- и полисахаридов

6.1. В 3 пробирки налить по 3 мл 0,1 %-го раствора сахарозы, мальтозы и крахмала.

6.2. Добавить 2-3 капли концентрированной соляной кислоты.

6.3. Поставить на 15 мин на кипящую водяную баню.

6.4. Добавить по 2 мл 10 %-го раствора гидроксида натрия.

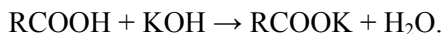
6.5. После добавления 6 капель 5 %-го раствора сульфата меди наблюдать осадок красного цвета.

Работа 2 Определение кислотного числа жира

Вводные пояснения

Одним из показателей свойств и состояния жиров является кислотное число. Оно характеризуется количеством миллиграммов гидроксида калия (KOH), которое необходимо для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира. Кислотное число зависит от качества сырья, способа получения масла или жира и условий их хранения, а также других факторов.

Метод основан на титровании пробы жира раствором гидроксида калия в присутствии индикатора фенолфталеина. В качестве растворителя для жира применяют смесь этанола с диэтиловым эфиром. Введение спирта при определении кислотного числа обусловлено необходимостью обеспечить растворимость полученных солей высших карбоновых кислот (мыла) в реакционной среде, которые образуются по реакции



При отсутствии спирта мыло не растворяется ни в диэтиловом эфире, ни в бензоле и выпадает в осадок, что затрудняет правильное определение конца реакции; кроме этого, в более полярной спирто-содержащей среде подавляется реакция гидролиза мыла.

Цель работы: сравнить пищевое достоинство различных растительных жиров разного срока хранения, определив их кислотное число.

Материалы и оборудование: *нейтрализованная смесь спирта с эфиром (к одному объему 96 %-го этилового спирта приливают два объема серного эфира, добавляют 3-4 капли раствора фенолфталеина и 0,1 н раствора КОН до слабо-розовой окраски); 0,1 н водный раствор КОН (5,61 г КОН растворяют в 1 л воды), 1 %-й спиртовой раствор фенолфталеина, масло разных сроков хранения, аналитические весы, конические колбы на 100 мл, бюретка, мерный цилиндр.*

Ход работы

1. В сухую взвешенную колбу внести около 1 г масла, определить точную навеску по разности между вторым (колба + масло) и первым (пустая колба) взвешиваниями.

2. В колбу прилить мерным цилиндром 30 мл нейтральной смеси спирта с эфиром и аккуратно перемешать, вращая колбу, до растворения масла.

3. К раствору масла прибавить 4-5 капель 1 %-го спиртового раствора фенолфталеина.

4. Оттитровать 0,1 н водным раствором КОН до ярко-розовой окраски.

5. Провести контрольное титрование 30 мл смеси спирта с эфиром.

6. Вычислить кислотное число, мг КОН / г, жира по формуле

$$X = (a - b)T \cdot 5,61 / H,$$

где a — объем 0,1 н КОН, пошедший на титрование навески жира, мл;

b — объем 0,1 н КОН, пошедший на контрольное титрование, мл;

T — поправка к титру КОН;

5,61 — $1/10$ молекулярной массы КОН;

H — масса навески, взятой для анализа, г.

7. Записать полученные данные в таблицу (рис. 2), сделать выводы о качестве изученных образцов масла.

Т а б л и ц а _ — Кислотное число различных образцов растительных масел

| Образец | Масса навески, г | Объем 0,1 н КОН, пошедший на титрование навески жира, мл | Объем 0,1 н КОН, пошедший на контрольное титрование, мл | Кислотное число |
|---------|------------------|--|---|-----------------|
| | | | | |

Рисунок 2 — Образец таблицы для заполнения

Лабораторная работа 3

Химический состав растительной клетки: белки

Работа 1 Определение изоэлектрической точки белка

Вводные пояснения

В зависимости от соотношения NH_2 , COOH и других функциональных групп реакция среды водного раствора белка может быть нейтральной, щелочной и кислой. Большинство водных растворов белков имеют кислую или слабокислую реакцию. Если в раствор белка добавить слабую кислоту, белок выпадет в осадок, поскольку молекула потеряет отрицательный заряд, станет электронейтральной, и его диссоциация понизится. Таким образом, изоэлектрическая точка (далее — ИЭТ) pI — это pH -реакция среды, при которой устанавливается равенство положительных и отрицательных зарядов данного белка. ИЭТ является константой для каждого белка и не зависит от его концентрации в растворе, однако может смещаться при наличии солей. По значению ИЭТ можно судить о состоянии белка, определять его функциональную активность. Кроме того, поскольку в pI белок не движется в электрическом поле, применяется изоэлектрическое фокусирование белков при разделении их смеси в полиакриламидном геле в градиенте pH .

Цель работы: определить ИЭТ для различных белков.

Материалы и оборудование: препараты белков, 0,1 н и 0,5 н растворы CH_3COOH , водяная баня, пипетки, колбы мерные емкостью 25 мл, пробирки.

Ход работы

1. Растворить 0,2 г белка (альбумина, глобулина) в 5 мл 0,5 н CH_3COOH в колбе на 25 мл.
2. Осторожно нагреть на водяной бане и довести водой до метки.
3. В пробирку внести по 1 мл раствора белка и воды и 0,01 н или 0,1 н раствора CH_3COOH в соответствии со схемой, приведенной в таблице (рис. 3).
4. Осторожно перемешать содержимое пробирок.
5. Установить pI по образованию мути в соответствующей пробирке. Оформить результаты в таблицу (см. рис. 3).

Т а б л и ц а _ — Установление ИЭТ белка

| № | Количество добавляемого раствора, мл | | | рН смеси | Наличие мути (осадка) |
|---|--------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------|-----------------------|
| | вода | 0,01 н CH ₃ COOH | 0,1 н CH ₃ COOH | | |
| 1 | 8,4 | 9,6 | — | 5,9 | |
| 2 | 7,75 | 1,25 | — | 5,6 | |
| 3 | 8,75 | — | 0,25 | 5,3 | |
| 4 | 8,5 | — | 0,5 | 5,0 | |
| 5 | 8 | — | 1 | 4,7 | |
| 6 | 7 | — | 2 | 4,4 | |
| 7 | 5 | — | 4 | 4,1 | |
| 8 | 1 | — | 8 | 3,8 | |

Рисунок 3 — Образец таблицы для заполнения

Работа 2 Обнаружение дегидрогеназ в растениях

Вводные пояснения

Дегидрогеназы — ферменты, катализирующие отщепление водорода от субстрата с переносом его к промежуточным или конечным акцепторам:



К ферментам, катализирующим эти реакции, относятся дегидрогеназы из класса оксидоредуктаз. По своей химической природе все дегидрогеназы являются двухкомпонентными ферментами, т. е. состоят из белка и кофермента: НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД.

Обнаружить их в растительной ткани можно при введении специфических акцепторов водорода, изменяющих свою окраску после восстановления. При недостатке кислорода бесцветный орто- и паранинитробензол, присоединяя водород, образующийся за счет активности дегидрогеназ, необратимо восстанавливается в дышащих тканях до орто- и паранинтраанилина желтого цвета. Метиленовый синий в анаэробных условиях при взаимодействии с дышащими тканями переходит в бесцветную лейкоформу.

Цель работы: обнаружить дегидрогеназы в различных растительных объектах, сравнить их активность.

Материалы и оборудование: набухшие семена гороха, фасоли, люпина, клубни картофеля, корнеплод редьки, раствор метиленового синего, раствор K₂HPO₄, масло, пробирки с притертыми крышками или пробками, штативы, цилиндры на 10 мл (пипетки), чашки Петри, ступки, водяная баня, термостат на 30 °С.

Ход работы

1. С проросших семян гороха, люпина, фасоли снять кожуру, из клубня вырезать кусочки, разложить одинаковые по массе навески в 2 пробирки.

2. Одну пробирку залить водой и 10 мин кипятить, воду слить, остудить.

3. В обе пробирки налить по 10 мл метиленового синего на 10 мин.

4. Окрашенные семена промыть, залить дистиллированной водой до метки, закрыть пробкой.

5. Поставить пробирки на водяной бане в термостат при температуре 30 °С, отмечая время начала опыта.

6. Наблюдать за изменением окраски, записать время для полного обесцвечивания для каждого образца.

7. Сравнить активность дегидрогеназ для различных растений, заполнив таблицу (рис. 4).

Т а б л и ц а _ — Обнаружение дегидрогеназ в растениях

| Ткань | Проростки фасоли | | Клубни картофеля | |
|---------------------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | живые | после кипячения | живые | после кипячения |
| Время обесцвечивания, мин | | | | |

Рисунок 4 — Образец таблицы для заполнения

Работа 3 Определение активности каталазы газометрическим методом

Вводные пояснения

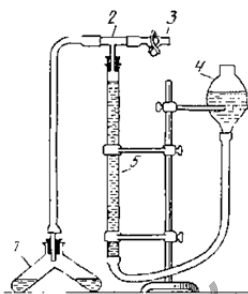
Перекись водорода является одним из побочных веществ, образующихся в процессе дыхания. В высоких концентрациях может оказывать токсическое действие, в связи с чем в клетке имеются особые ферменты — каталазы, нейтрализующие перекись водорода. Реакцию можно записать следующим образом:



По объему выделившегося кислорода можно судить об активности каталазы. Определить его можно или с помощью специального прибора — каталазника, или за счет добавления в среду веществ, меняющих окраску при реакции с перекисью: например, обесцвечивание перманганата калия.

Цель работы: выявить каталазную активность в различных растительных тканях.

Материалы и оборудование: растение с листьями нескольких ярусов, проростки пшеницы, кварцевый песок, мел, 3 %-й раствор перекиси водорода, фарфоровые ступки с пестиками, пипетки на 5 мл, мерные цилиндры на 25 мл, прибор для определения активности каталазы (рис. 5), секундомер, весы.



1 — катализник; 2 — стеклянный тройник;
3 — винтовой зажим; 4 — стеклянная груша;
5 — бюретка на 50 мл

Рисунок 5 — Прибор для определения каталазной активности

Ход работы

1. Растереть навеску 0,5 г листьев в фарфоровой ступке с песком и 0,5 г мела (для создания щелочной реакции) с добавлением воды небольшими порциями (до 10 мл).

2. Перенести смесь в одно колено катализника.

3. Во второе колено поместить 5 мл 3 %-го раствора перекиси водорода.

4. Аккуратно соединить катализник с каучуковой трубкой.

5. Открыть зажим и перемещением воронки установить уровень воды в бюретке на нуль, закрыть зажим. Вода в воронке и в бюретке должна быть на одном уровне.

6. Быстрым движением смешать жидкость в обоих коленах катализника.

7. Через 3 мин, все время потряхивая катализник (не держать всей рукой, чтобы предотвратить расширение воздуха из-за нагревания), по изменению положения воды в бюретке отметить объем кислорода, выделившегося в течение времени на единицу массы навески.

8. Результаты оформить в таблицу (рис. 6), сделать выводы.

Т а б л и ц а _ — Определение активности каталазы

| Материал | Навеска, г | Выделилось O_2 за 3 мин, мл | Активность каталазы, мл O_2 на 1 г сырой массы |
|----------|------------|----------------------------------|---|
| | | | |

Рисунок 6 — Образец таблицы для заполнения

Лабораторная работа 4

Влияние условий среды на протекание ферментативных реакций

Работа 1 Влияние кислотности среды на активность каталазы

Вводные пояснения

Одним из отличий ферментов от неорганических катализаторов является их большая чувствительность к изменениям условий среды: pH, температуры и др. Наибольшая активность каждого фермента проявляется лишь при определенном, характерном для него оптимуме pH.

Цель работы: определить активность каталазы при трех pH: кислой, естественной для исследуемого материала и слабощелочной.

Материалы и оборудование: 3 %-й раствор пероксида водорода, $CaCO_3$, 10 %-й раствор H_2SO_4 , прибор для определения активности каталазы, проросшие семена злаков, ступки с пестиком, весы, стеклянная палочка, секундомер.

Ход работы

1. Взвесить 3 навески проросших семян по 1 г, которые используются для трех анализов.

2. Для первого анализа навеску растереть в ступке с добавлением 2 мл воды, перенести в каталазник и выполнить определение, как описано в предыдущей работе.

3. Для второго анализа при растирании в ступке добавить 1-2 капли 10 %-го раствора H_2SO_4 и также выполнить определение активности.

4. При третьем анализе добавить 0,5 г $CaCO_3$. Далее работу выполнить так же, как и при первом анализе.

5. Полученные данные записать в таблицу (рис. 7) и сделать выводы.

Т а б л и ц а _ — Влияние кислотности среды на активность каталазы

| Исследуемый материал | Кислотность среды | Количество мл O_2 , выделившегося за 3 мин на 1 г сырой массы | Активность (высокая, низкая) |
|----------------------|-------------------|---|------------------------------|
| | | | |

Рисунок 7 — Образец таблицы для заполнения

Работа 2 Влияние температуры на гидролиз крахмала

Вводные пояснения

Изменения температуры как в сторону повышения, так и понижения могут привести к изменению конформации фермента и снижению активности. Нагревание выше определенной температуры приводит к полной денатурации белка, после чего ферментативная активность не восстанавливается.

Гидролиз крахмала идет постепенно. По мере гидролиза изменяется окраска индикаторных растворов при добавлении в них смеси крахмального клейстера с вытяжкой. В первой пробе, куда добавлен еще не гидролизованный крахмал, будет синяя окраска. При последующих пробах декстрины будут давать самое разнообразное окрашивание: сине-фиолетовое, розовое и т. д.

Цель работы: определить скорость гидролиза крахмала при различных температурах.

Материалы и оборудование: 2 %-й раствор крахмального клейстера, раствор Люголя, проросшие семена ячменя, пшеницы и др., 3-4 штатива с 35—40 пробирками, воронка, вата, центрифужные пробирки, центрифуга, стакан на 1-2 л, 3 стакана 250—500 мл, пипетки на 10 мл и глазные, весы, ступка с пестиком, термометр.

Ход работы

1. Приготовление вытяжки, содержащей амилазу

- 1.1. Проросшие семена объемом 5 г растереть в ступке 1-2 мин, прилив 10—15 мл воды.
- 1.2. Полученную массу профильтровать через вату.
- 1.3. Перенести жидкость в центрифужную пробирку, центрифугировать 3-4 мин при 3 000 об. / мин.
- 1.4. Надосадочную жидкость аккуратно, не взбалтывая, слить в чистую пробирку и использовать для опыта.

2. Приготовление индикаторных растворов на крахмал

- 2.1. В 10 пробирок налить по 10 мл воды и добавить по 3 капли раствора Люголя — индикаторные пробирки.
- 2.2. Приготовить водяную баню с заданной температурой (рис. 8).

3. Проведение опыта

- 3.1. В одну чистую сухую пробирку налить 10 мл 2 %-го раствора крахмального клейстера, в другую — 1 мл вытяжки амилазы.
- 3.2. Пробирки поместить на водяную баню заданной температуры (температура все время поддерживается на одном уровне).

3.3. Через 10 мин крахмальный клейстер из первой пробирки перелить в пробирку с вытяжкой, быстро перемешать и опять поместить на эту же водяную баню. Отметить время начала опыта и взять пробу на крахмал (3-4 капли смеси внести в первую пробирку с индикаторным раствором). Все операции проделывать быстро.

3.4. Последующие пробы на крахмал взять при 10 °С — через 5 мин; 20 °С — через 3 мин; 30 °С — через 2 мин и при 40—50 °С — через 1 мин.

3.5. Опыт закончить при отсутствии йодной реакции в индикаторном растворе: слабо-желтая окраска. Записать время гидролиза крахмала при данной температуре и рассчитать относительную активность амилазы.

3.6. Полученные результаты записать в таблицу (см. рис. 8).

3.7. На основании полученных результатов построить график зависимости активности амилазы от температуры и сделать выводы.

Т а б л и ц а _ — Влияние температуры на скорость гидролиза крахмала

| Температура опыта, °С | Время гидролиза крахмала, мин | Активность амилазы (количество мл крахмала, гидролизованного 1 мл амилазы за 1 ч) |
|-----------------------|-------------------------------|---|
| 10 | | |
| 20 | | |
| 30 | | |
| 40 | | |

Рисунок 8 — Образец таблицы для заполнения

2 ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ

Лабораторная работа 5

Определение транспирации растений

Работа 1 Определение транспирации объемным методом

Вводные пояснения

Интенсивность транспирации определяется по изменению объема воды. Для этого конструируется прибор, называемый потометром, в него помещается лист или ветка растения и определяется интенсивность транспирации по изменению объема воды в градуированном капилляре. Также с помощью такого прибора можно определять поглощение воды корнями. В таком случае растение помещается в прибор целиком.

Цель работы: определить интенсивность транспирации листьев (в зависимости от потока воздуха) объемным методом.

Оборудование и материалы: *растение пеларгонии зональной (Pelargonium zonale L.) или другое с длинным черешком; потومتر, вата, пластилин, вазелин. Ветки растений, кристаллизатор, каучуковые пробки, пробочные сверла, штативы с зажимами, 2 бюретки объемом на 25 или 50 мл, резиновые трубочки и 2 зажима, острый нож, отстоявшаяся водопроводная вода (или кипяченая), вентилятор или фен с холодным воздухом.*

Ход работы

1. Взять две бюретки, на их нижние концы надеть резиновые трубки с зажимами.

2. Бюретки наполнить водой (вода водопроводная, но отстоявшаяся сутки) и плотно закрыть каучуковыми (или резиновыми) пробками.

3. Вставить веточки или листья в отверстия пробок.

4. Бюретки перевернуть растениями вниз и установить уровень воды в них на определенном делении. Для этого осторожно долить в бюретку через нижнее отверстие необходимое количество воды.

5. Перевернутые растениями вниз бюретки прикрепить к штативам и поставить их в соответствующие условия на 1 ч.

6. По окончании времени экспозиций заметить, на сколько миллилитров понизился уровень воды в бюретках. Это будет количество воды, испаренное с фактической поверхности листа за время опыта.

7. Определить площадь листьев у взятых для опыта растений весовым методом.

8. Интенсивность транспирации $г / см^2 \cdot ч$ рассчитать по формуле

$$I = 1000C / St,$$

где C — убыль массы за время опыта, г;

S — площадь листа, $см^2$;

t — время опыта, ч.

9. Заполнить таблицу (рис. 9), сравнить интенсивность транспирации в различных условиях. При выполнении данной работы следует записать условия опыта (температуру и влажность воздуха, освещенность и др.).

Т а б л и ц а _ — Транспирация листьев, определение объемным методом

| Условия опыта | Уровень воды в бюретке, мл | | Потеря воды, г | Площадь листа, $см^2$ | Время опыта, ч | Интенсивность транспирации, $г / см^2 \cdot ч$ |
|---------------|----------------------------|-------|----------------|-----------------------|----------------|--|
| | до | после | | | | |
| | | | | | | |

Рисунок 9 — Образец таблицы для заполнения

Работа 2 Определение интенсивности транспирации хлоркобальтовым методом (по Шталю)

Вводные пояснения

Данный метод основан на способности фильтровальной бумаги, пропитанной хлористым кобальтом, в зависимости от влажности менять свою окраску от голубой (в абсолютно сухом состоянии) до розовой (при сильном увлажнении). По скорости смены окраски хлоркобальтовой бумаги можно судить об интенсивности транспирации листа.

Цель работы: пронаблюдать интенсивность транспирации с верхней и нижней сторон.

Оборудование и материалы: растения пеларгонии зональной (*Pelargonium zonale* L.) и традесканции виргинской (*Tradescantia virginiana* L.), 5 %-й раствор CoCl_2 , фильтровальная бумага, скотч, стекла предметные, пинцеты.

Ход работы

1. Приложить к нижней и верхней сторонам листа герани подсушенную до равномерного голубого окрашивания хлоркобальтовую бумагу, положить между предметными стеклами и закрепить скотчем.

2. Засечь время и наблюдать изменение окраски бумаги с двух сторон до появления четко заметной разницы в окраске бумаги с верхней и нижней сторон листа растения.

3. Записать различия в скорости порозовения бумаги для верхней и нижней сторон листа, сделать вывод об интенсивности транспирации.

3 ФОТОСИНТЕЗ

Лабораторная работа 6

Разделение пигментов растительной клетки

Работа 1 Разделение пигментов методом бумажной хроматографии

Вводные пояснения

Метод бумажной хроматографии основан на распределении пигментов между целлюлозой хроматографической бумаги и подвижной фазой — растворителями. Когда по бумаге под действием капиллярных сил движутся растворители, молекулы пигментов, нанесенные на бумагу, распределяются между двумя фазами в соответствии с коэффициентом распределения. Чем выше растворимость пигмента в подвижной фазе, тем дальше он продвигается по бумаге вместе

с растворителем, и наоборот. Расстояние, пройденное нанесенным на бумагу пигментом в направлении движения растворителя, характеризуется величиной R_f , которая представляет собой отношение расстояния, пройденного растворенным пигментом, к расстоянию, пройденному фронтом растворителя. В стандартных условиях эта величина для каждого пигмента постоянна и соответствует его коэффициенту распределения. Хроматографирование выполняют в герметично закрытых сосудах, где поддерживают насыщенную парами растворителей атмосферу, что предотвращает испарение пигментов с бумаги. Для их эффективного разделения толщина бумаги должна быть равномерной, а сама бумага — обладать достаточной плотностью.

При хроматографировании получают четыре полосы пигментов, хорошо отделенных друг от друга, в такой последовательности (от стартовой линии): хлорофилл *b*, хлорофилл *a*, ксантофиллы и каротины.

Цель работы: провести хроматографическое разделение вытяжки растительных пигментов.

Материалы и оборудование: *раствор для бумажной хроматографии (петролейный эфир, или гексан, или смесь ацетон — 0,4 см³, этанол — 0,6 см³, петролейный эфир — 20 см³), этиловый спирт, ацетон, стеклянный стакан на 50 см³, сахарная пробирка, хроматографическая бумага (1,5 × 14 см), резиновая пробка с крючком, ножницы, вентилятор.*

Ход работы

1. Приготовить вытяжку пигментов (см. лаб. работу 7, с. 20).
2. На одном конце полоски хроматографической бумаги размером 14 × 1,5 см, отступив от края 4 см, провести простым карандашом с помощью линейки тонкую, еле заметную линию.
3. Тонкой капиллярной пипеткой нанести каплю полученной вытяжки пигментов диаметром не более 1 см. Подсушить, повторить 5—7 раз.
4. В сосуд или цилиндр с растворителем (гексан, петролейный эфир) на дне опустить хроматографическую полоску стартовой линией так, чтобы она слегка касалась растворителя, а края не касались стенок, и плотно закрыть пробкой.
5. Поместить в темное место на 45 мин до полного разделения пигментов.
6. Достать хроматограмму из камеры, просушить с помощью вентилятора или фена, а затем клеить в тетрадь. Обозначить на ней разделение пигментов.
7. Объяснить, чем обусловлено такое распределение пигментов.

Лабораторная работа 7

Количественное определение фотосинтетических пигментов

Работа 1 Количественное определение пигментов

Вводные пояснения

Содержание хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов может существенно различаться в зависимости от вида и сорта растений, а также от ряда внешних (освещение, обеспеченность водой, минеральными элементами) и внутренних (возраст, расположение листа) факторов. Определение содержания и соотношения пигментов может дать много информации о строении и функциональной активности фотосинтетического аппарата. Одним из наиболее распространённых методов определения концентрации является расчет содержания пигментов исходя из оптической плотности их экстракта при определенных длинах волн. Поэтому при проведении данной работы крайне важно тщательно экстрагировать пигменты из точно взятой навески, предельно минимизировав потери вытяжки.

Цель работы: определить и сравнить содержание хлорофилла в листьях: а) различных культур; б) разного возраста; в) светолюбивых и тенелюбивых растений.

Материалы и оборудование: *свежие листья разных растений, ацетон, CaCO₃, кварцевый или стеклянный песок, мерные цилиндры на 50 или 100 мл, мерные колбочки на 50 мл, ступка с пестиком, фильтры, воронки, ножницы, пробирки, ФЭК или СФ, пипетки для переноса вытяжки, весы.*

Ход работы

1. Получение вытяжки

1.1. Измельчить ножницами свежие листья одного яруса, отбросив черешки и крупные жилки.

1.2. Взять навеску в 4-5 г для определения сухого вещества: поместить в сухой бюкс известной массы, взвесить, поместить в сушильный шкаф, взвесить после полного высыхания.

1.3. Взять навеску массой 0,5 г, растереть в ступке с небольшим количеством песка и CaCO₃ до однородной массы.

1.4. Прилить 3-4 мл ацетона и растирать до окрашивания его в интенсивно-зеленый цвет.

1.5. Полученную ацетоновую вытяжку осторожно, не захватывая растертую массу, с помощью специальной пипетки перенести на сухой

бумажный фильтр (он должен быть ниже края воронки на 2-3 мм) и сразу фильтровать в сухой мерный цилиндр или мерную колбочку.

1.6. К оставшейся в ступке кашице из листьев прибавить еще 3-4 мл ацетона, растереть и перенести на фильтр. Извлечение хлорофилла производить небольшими порциями ацетона до полного обесцвечивания растительного материала в ступке.

1.7. Ступку, пестик, фильтр и пробирку обмыть небольшими порциями ацетона до полного исчезновения зеленой окраски.

1.8. Объем вытяжки довести прибавлением ацетона до 25—30 мл и записать. Вытяжку сразу же поместить в темный шкаф до анализа ее на ФЭКе или СФ.

2. Анализ вытяжки на СФ (спектрофотометре)

Проводить согласно инструкции, прилагаемой к оборудованию. Для прогрева его необходимо включить не менее чем за 30 мин до измерений. Перед работой необходимо тщательно протереть кюветы, при установке в кюветодержатель нельзя касаться рабочих участков поверхности. Жидкость в кюветы наливать до метки на боковой стенке. Измерения проводят не менее трех раз и из полученных данных вычисляют среднее значение оптической плотности. Полученные данные записывают в таблицу (рис. 10).

3. Расчет содержания хлорофилла в листьях

3.1. Записать оптические плотности для следующих длин волн в таблицу (см. рис.10).

3.2. Рассчитать содержание хлорофилла a :

– в вытяжке, мг / л:

$$A_1 = 9,784OD_{662} - 0,99OD_{644},$$

где OD_{662} — оптическая плотность при 662 нм, а OD_{644} — при 644 нм;

– на единицу массы, мг / г:

$$A_2 = A_1 V / m \cdot 1\,000,$$

где A_1 — концентрация пигментов в вытяжке, мг / л;

V — объем вытяжки, мл;

m — масса навески (сырая или сухая), г;

1 000 — перевод мл в л.

3.3. Рассчитать содержание хлорофилла b :

– в вытяжке, мг / л:

$$B_1 = 21,426OD_{644} - 4,65OD_{662};$$

– на единицу массы, мг / г:

$$B_2 = B_1 V / m \cdot 1\,000,$$

где B_1 — концентрация пигментов в вытяжке, мг / л.

3.4. Рассчитать содержание каротиноидов:

– в вытяжке, мг / л:

$$C_1 = 4,695(A_1 + B_1) - 0,268OD_{440,5},$$

где $A_1 + B_1$ — суммарное содержание хлорофиллов;

$OD_{440,5}$ — оптическая плотность при 440,5 нм;

– на единицу массы, мг / г:

$$C_2 = B_1 V / m \cdot 1\,000,$$

где B_1 — концентрация пигментов в вытяжке, мг / л.

3.5. Результаты занести в таблицу (см. рис. 10).

Т а б л и ц а _ — Определение содержания хлорофилла в листьях

| Объект | Навеска, мг | | Объем вытяжки, мл | Оптическая плотность раствора, нм | | | Хл. а, мг / г | Хл. б, мг / г | Кар., мг / г |
|--------|-------------|-------|-------------------------|--------------------------------------|-----|-------|------------------|------------------|-----------------|
| | сырая | сухая | | 662 | 644 | 440,5 | | | |
| | | | | | | | | | |

Рисунок 10 — Образец таблицы для заполнения

3.6. Составить сводную таблицу содержания пигментов в листьях исследуемых объектов и сделать выводы.

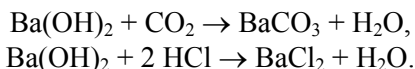
Лабораторная работа 8 *Интенсивность фотосинтеза*

Работа 1 Определение интенсивности фотосинтеза методом ассимиляционной пробы (по Л. А. Иванову и др.)

Вводные пояснения

Метод основан на определении количества углекислого газа (мг), поглощаемого при фотосинтезе единицей площади листа (дм^2) за единицу времени (ч). В зависимости от условий среды и видовых особенностей величина интенсивности видимого фотосинтеза варьирует от 4 до 75 мг $\text{CO}_2 / \text{дм}^2 \cdot \text{ч}$. Побег или лист помещают в перевернутую колбу и выставляют на свет на определенное время. Часть CO_2 поглощается в процессе фотосинтеза. Оставшийся углекислый газ поглощается

избытком щелочи. Оставшуюся щелочь титруют кислотой (соляной или щавелевой) до изменения окраски индикатора. То же проделывают с контрольной колбой и сопоставляют результаты. Для того чтобы определить, какому количеству CO_2 соответствует 1 мл, использованный для титрования, запишем уравнения реакций:



1 молю HCl соответствует 0,5 моля CO_2 , или 22 г. При концентрации HCl 0,025 н в 1 мл содержится 0,000025 моля HCl , что соответствует 0,55 мг CO_2 .

Для получения более точных данных необходимо учитывать дыхание; выдержать тот же лист в колбе того же объема, но в темноте и определить количество выделившегося CO_2 .

Цель работы: определить интенсивность фотосинтеза растений по поглощению CO_2 .

Материалы и оборудование: листья комнатных растений, спиртовой раствор фенолфталеина, 0,025 н $\text{Ba}(\text{OH})_2$, 0,025 н HCl , 3 плоскодонные колбы объемом 1 000 см^3 , стеклянная пипетка на 10 см^3 , бюретка на 25 см^3 , резиновая пробка для колбы на 1 000 см^3 с малым отверстием, резиновая пробка с крючком для колбы на 1 000 см^3 , лампа электрическая.

Внимание! При проведении опыта:

1. Взбалтывайте содержимое колб каждые 2—5 мин.
2. Держите колбу за горлышко, чтобы избежать нагревания газа.
3. Опыт со светом проводите под лампой на расстоянии более 30 см.

Ход работы

1. Определить площадь листа (см. лаб. работу 2).
2. Лист поместить на крючок пробки в стеклянную герметично закрытую колбу емкостью 1 000 см^3 , поставить на 10 мин на яркий свет.
3. По окончании опыта быстро извлечь растение из колбы и закрыть ее пробкой с небольшим (закрытым) отверстием.
4. Через отверстие прилить 20 мл 0,025 н раствора гидроксида бария (часть щелочи свяжется с оставшимся CO_2).
5. Добавить в колбу 1-2 капли фенолфталеина и оттитровать оставшуюся щелочь 0,025 н соляной или щавелевой кислотой.
6. Таким же образом определить содержание CO_2 в контрольной пробе.

7. Разница содержания углекислоты в колбе контрольной пробы и колбе с зеленым листом характеризует количество CO_2 , который поглощается растением в процессе видимого фотосинтеза.

8. Чтобы определить истинный фотосинтез, необходимо учесть количество CO_2 , которое выделяется этим же растительным материалом в процессе дыхания, протекающем одновременно с фотосинтезом. С этой целью еще одну колбу с листом, использовавшимся в первом опыте, поместить в темноту и повторить опыт.

9. Рассчитать интенсивность видимого фотосинтеза в миллиграммах CO_2 , поглощенного за 1 ч на единицу площади поверхности листа, по формуле, $\text{мг CO}_2 / \text{дм}^2 \cdot \text{ч}$,

$$I = [(B - A) \cdot 0,55 \cdot 60] / St,$$

где B — количество HCl , которое пошло на титрование барита в контрольной пробе, см^3 ;

A — количество HCl , которое пошло на титрование барита в опытной пробе, см^3 ;

0,55 — количество CO_2 , которое соответствует 1 см^3 0,025 н HCl , мг;

60 — минуты для пересчета на 1 ч;

S — площадь листа, дм^2 ;

t — длительность опыта, мин.

10. Рассчитать истинный фотосинтез путем сложения интенсивности видимого фотосинтеза в мг CO_2 , поглощенного за 1 ч на единицу площади поверхности листа, и количество CO_2 , которое выделилось листом в процессе фотосинтеза. Все результаты внести в таблицу (рис. 11).

Т а б л и ц а — Определение содержания CO_2 в колбе

| Продолжительность опыта, мин | Площадь листа, дм^2 | Количество HCl , которое пошло на титрование, см^3 | Содержание CO_2 в колбе, мг |
|------------------------------|------------------------------|--|--------------------------------------|
| | | | |

Рисунок 11 — Образец таблицы для заполнения

Работа 2 Определение площади листьев

Вводные пояснения

Лист — основной ассимилирующий орган растения, в котором образуется основная масса органических веществ, служащих структурно-энергетическим материалом для всего организма. Площадь отдельного

листа и общая листовая поверхность растения позволяют оценить как сам фотосинтетический потенциал, так и интенсивность его работы.

В настоящее время чаще всего используются весовой и математический (основанный на измерении отдельных линейных размеров листьев) методы. Имеются специальные приборы (планиметры) и специальные программы для определения площади как с помощью обыкновенного сканера, так и по фотографии на смартфоне.

Цель работы: определить площадь листьев различной формы несколькими методами, сравнить их точность.

Материалы и оборудование: листья растений (различные по форме), линейки, карандаши, миллиметровая бумага, бумага, ножницы, весы аналитические, сканер.

Ход работы

Для работы выбрать несколько листьев различной формы, площадь каждого из которых определить несколькими методами. Работу следует выполнять быстро, чтобы листья не потеряли свою форму из-за увядания.

1. Определение площади с помощью миллиметровой бумаги

1.1. Приложить лист к миллиметровой бумаге, аккуратно обвести карандашом по контуру листа.

1.2. Вычислить площадь листа, подсчитав клеточки с точностью до мм², полученные данные занести в таблицу (рис. 12).

2. Определение площади весовым методом

2.1. Обвести лист по контуру на обычной бумаге, вырезать и взвесить на аналитических весах.

2.2. Вырезать из той же бумаги и взвесить квадрат площадью 10 см².

2.3. Площадь листа, см², рассчитать по формуле

$$S = m_1 S_1 / m_2,$$

где m_1 — масса контура листа, г;

S_1 — площадь квадрата бумаги, см²;

m_2 — масса квадрата бумаги известной площади, г.

4. Полученные данные записать в таблицу (см. рис. 12).

Т а б л и ц а _ — Определение площади листа различными методами

| Объект | Площадь листа, см ² | | | |
|--|--------------------------------|-----------------|------------------------|----------|
| | по миллиметровой бумаге | весовым методом | математическим методом | сканером |
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |
| 3 | | | | |
| Среднее | | | | |
| Процент от площади, определенной сканированием | | | | |

Рисунок 12 — Образец таблицы для заполнения

3. Определение площади математическим методом

Для некоторых листьев простой геометрической формы возможно определение площади с помощью математических формул, например, для прямоугольника, с учетом специальных коэффициентов (табл. 1).

3.1. Определить у листьев длину и ширину и рассчитать площадь по формуле, данные занести в таблицу (см. рис. 12):

$$S = ДШК,$$

где Д — длина, см;

Ш — ширина, см;

К — коэффициент (см. табл. 1).

Т а б л и ц а 1 — Расчетные коэффициенты для определения площади листа

| Показатель | Вид | | | | |
|-----------------------|----------|---------|--------------|-----------|--------|
| | Брусника | Капуста | Подсолнечник | Пшеница | Фасоль |
| Расчетный коэффициент | 0,77 | 0,85 | 0,7 | 0,57—0,82 | 0,68 |

4. Определение площади листа с помощью сканера

4.1. На сканер положить плотную прозрачную пленку, разложить на ней предварительно просушенные листья.

4.2. Плотно прижать листья крышкой к стеклу экспонирования и отсканировать.

4.3. Полученный результат сохранить в виде бинарного изображения (двухцветного, иногда называемого черно-белым).

4.4. Полученное изображение загрузить в специализированную программу для расчета площади.

4.5. Занести полученные результаты в таблицу (см. рис. 12), сравнить точность всех методов относительно данного, сделать соответствующие выводы.

4 ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ

Лабораторная работа 9 *Дыхание растительной клетки*

Работа 1 Расход органического вещества на дыхание **Вводные пояснения**

В процессе аэробного дыхания, при участии кислорода воздуха, органические вещества окисляются до углекислого газа и воды с высвобождением энергии. Этот процесс выражается следующим суммарным уравнением:



Из приведенного уравнения видно, что дыхание сопровождается уменьшением сухой массы организма, происходящим вследствие расходования гексоз. Наиболее удобно наблюдать расходование органических веществ на дыхание при проращивании семян и сравнении содержания сухого вещества в семенах и проростках. При этом проращивание необходимо проводить в темноте, чтобы исключить синтез органических соединений за счет фиксации CO_2 в процессе фотосинтеза.

Цель работы: определить расход органического вещества на дыхание у 10—14-дневных проростков пшеницы, тритикале, ячменя, овса.

Материалы и оборудование: *этиолированные проростки злаков или других культур, сухие семена, большие стеклянные или фарфоровые чашки, бюксы, фильтровальная бумага, сушильный шкаф, весы.*

Ход работы

1. Осторожно вынуть из опилок 25 этиолированных проростков вместе с корневой системой и остатками зерен.
2. Отмыть проростки от опилок водой в большой чашке.
3. Обсушить растения фильтровальной бумагой и в бумажном пакете поместить в сушильный шкаф.

4. Отсчитать 25 хорошо выполненных воздушно-сухих семян из тех, что брали для проращивания, и также поместить в сушильный шкаф. Исследуемые проростки и семена высушивать при температуре 100—105 °С до постоянной массы.

5. Определить сухую массу проростков и семян, записать в таблицу (рис. 13).

6. На основании полученных результатов определить расходование органических веществ на дыхание при прорастании семян.

Т а б л и ц а _ — Определение расходования органических веществ на дыхание

| Исследуемые растения | Продолжительность роста в темноте, дней | Сухая масса, г | | Убыль сухой массы у проростков | |
|----------------------|---|----------------|------------|--------------------------------|------------------------|
| | | семян | проростков | г | процент от массы семян |
| | | | | | |

Рисунок 13 — Образец таблицы для заполнения

Работа 2 Влияние температуры на интенсивность дыхания

Вводные пояснения

Дыхание, как и другие биологические процессы, зависит от температуры. С возрастанием температуры до определенного предела интенсивность дыхания увеличивается. Дальнейшее повышение температуры угнетает этот процесс. Интенсивность дыхания определяется количеством кислорода, поглощенным растительным материалом. Для определения O_2 необходимо, чтобы выделяемый CO_2 был удален из объема воздуха, который используется тканями растений. С этой целью в определенный замкнутый объем вводится раствор щелочи (NaOH или KOH). В этом случае количество воздуха, доступное изучаемым растительным объектам, будет уменьшаться в результате поглощения ими кислорода. Это изменение объема учитывается в опыте и используется для характеристики интенсивности дыхания.

Цель работы: определить влияние различной температуры на интенсивность дыхания у проростков или листьев различных растений.

Материалы и оборудование: проросшие семена или листья различных растений, 10 %-й раствор NaOH или KOH, пипетки, термометры, вата, обрезки стеклянных или пластмассовых трубочек, секундомер, подкрашенная метиленовым синим вода, химические стаканы на 100 мл, 3-4 прибора для проведения опыта, фарфоровые стаканы объемом 1 л, электроплитка, весы.

Ход работы

Для опыта используют прибор, состоящий из термоса, сохраняющего определенную температуру воды, пробирки и закрывающей её резиновой пробки с отводной трубкой, градуированной с точностью до 0,01 мл.

1. На дно пробирки поместить ватный тампон и осторожно, не пачкав стенки пробирки, накапать на него 15—20 капель 10 %-го NaOH.

2. Поверх тампона положить 2-3 обрезка стеклянных трубок и на них — 2-3 г проросших семян, пробирку плотно закрыть резиновой пробкой со вставленной в нее трубкой.

3. Собранную пробирку поместить в термос с водой, имеющей соответствующую температуру: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 °С.

4. Конец трубки погрузить в подкрашенную воду, налитую в химический стакан: объем воздуха в процессе дыхания будет уменьшаться, так как O_2 поглощается тканями в процессе дыхания, а CO_2 — щелочью, и вода будет засасываться в трубку.

При температуре в термосе 10 °С объем воздуха в пробирке сильно уменьшится, вода будет быстро подниматься по трубке. Поэтому отсчет начинать через 10—15 мин, когда температура стабилизируется и растения адаптируются, а скорость подъема жидкости уменьшится. При температурах 40—70 °С через трубку объем воздуха увеличивается и в подкрашенную воду выделяются пузырьки. В этих вариантах отсчеты следует начинать после поднятия воды до отметки 0,10—0,15 мл и стабилизации скорости подъема. При температурах 20, 30 °С отсчеты можно начинать вскоре после постановки опыта.

5. Отсчет уровня воды в трубке производить через каждые 2 или 3 мин.

6. Результаты (6—8 отсчетов) занести в таблицу (рис. 14), рассчитать количество O_2 , поглощенное за 1 ч одним граммом исследуемого материала.

7. По результатам опыта построить график зависимости интенсивности дыхания от температуры и сделать соответствующий вывод.

Т а б л и ц а _ — Влияние температуры на интенсивность дыхания

| Температура, °С | Навеска, г | Отсчет, мл | Время, мин | Поглощено O_2 , мл / ч · г | Интенсивность дыхания, мл / ч · г |
|-----------------|------------|------------|------------|------------------------------|-----------------------------------|
| 10 | | | | | |
| 20 | | | | | |
| | | | | | |
| 70 | | | | | |

Рисунок 14 — Образец таблицы для заполнения

5 МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ

Лабораторная работа 10 *Роль корневой системы*

Работа 1 Определение общей и рабочей адсорбирующей поверхности корней методом Сабинина и Колосова

Вводные пояснения

Количество корней, характер их разветвления, а также их активность и соотношение адсорбирующей поверхности к общей определяют эффективность поглощения питательных веществ. Адсорбирующая поверхность — это та часть корней, которая может всасывать воду и минеральные вещества. Старые, опробковевшие корни без корневых волосков, которые уже не участвуют в процессах поглощения и обеспечения растений водой и минеральными элементами, относятся к недействительной поверхности корня.

Для определения этих поверхностей можно использовать метод Д. А. Сабинина и И. И. Колосова. С помощью колориметра определяется изменение концентрации опытного раствора метиленового синего после погружения в него корневой системы и адсорбции части молекул. Известно, что 1 мг метиленового синего покрывает 1,1 м² поверхности адсорбента, таким образом можно определить площадь корней. При двукратном погружении на 1,5 мин происходит адсорбционное насыщение как деятельной, так и недействительной поверхности корней, а при третьем 1,5-минутном погружении метиленовый синий поглощается только деятельной поверхностью (рабочей), которая за этот промежуток времени десорбировала поглощенную ранее краску внутрь корня.

Большее соотношение рабочей поверхности к недействительной указывает на более высокую продуктивность таких растений и может служить показателем для отбора сортов и гибридов, а также играет роль в выяснении условий питания растений и в разработке рациональной системы их агротехники.

Цель работы: определить объем общей, рабочей и недействительной корневой системы у растений, выращенных на водной культуре на среде Кнопа, и, исключив отдельные элементы питания, установить роль этих элементов в формировании корневой системы и ее характеристик.

Материалы и оборудование: *растение с корневой системой, 0,0002 н раствор метиленового синего (64 мг в 1 л дистиллированной воды), стаканы, цилиндры, соответствующие объему корней, фильтровальная бумага, колориметр, хлорид кальция.*

Ход работы

1. Определить объем корневой системы: в мерный цилиндр с водой, налитой до определенного деления, погрузить корни растения и отметить объем вытесненной воды.

2. В три пронумерованных стакана налить 0,0002 н раствора метиленового синего (в 10 раз больше объема корневой системы).

3. Корни, обсушенные фильтровальной бумагой, последовательно погрузить в три стакана с метиленовым синим на 1,5 мин в каждый. Осторожно помешивать раствор за счет поворачивания корней и давать возможность стечь с них краске после каждого погружения.

4. Разбавить опытные растворы в стаканах 1 : 10 (1 часть раствора и 9 частей дистиллированной воды) и с помощью ФЭК (желтый светофильтр) или СФ (660 нм) определить в них концентрацию метиленового синего по калибровочной шкале с учетом разведения или по формуле, мг / мл,

$$C = EC_k / E_{к_0}$$

где E — оптическая плотность метиленового синего в опытных растворах;

C_k — концентрация краски в исходном растворе (0,064 мг / мл);

$E_{к_0}$ — оптическая плотность исходного раствора метиленового синего.

5. Результаты записать в таблицу (рис. 15).

Т а б л и ц а _ — Результаты анализа растворов метиленового синего на ФЭКе

| Вариант | Объем корневой системы, мл | Показание оптической плотности метиленового синего | | | Концентрация метиленового синего, мг | | |
|---------|----------------------------|--|-----|-----|--------------------------------------|-------|-------|
| | | 1-й | 2-й | 3-й | C_1 | C_2 | C_3 |
| | | | | | | | |

Рисунок 15 — Образец таблицы для заполнения

6. Выполнить расчеты по таблице (рис. 16): определить количество метиленового синего, поглощенного корнями из каждого стакана. Для получения величины общей адсорбирующей поверхности корня умножают число миллиграммов метиленового синего, поглощенного из 1-го и 2-го стаканов, на 1,1 м². Величину рабочей поверхности находят умножением 1,1 м² на количество миллиграммов краски, поглощенной из 3-го стакана. Разница между величинами общей адсорбирующей поверхности и рабочей дает представление о величине недействительной поверхности корневой системы. Частные от деления величин общей и рабочей адсорбирующей поверхности на объем корней характеризуют удельную общую и рабочую поверхность корня.

7. Окрашенные корни после извлечения их из 3-го стакана промыть водой и поместить в стакан с раствором хлорида кальция: выделение метиленового синего указывает на наличие обменной адсорбции.

8. Результаты опыта проанализировать и сделать выводы о влиянии отдельных элементов питания (азота, фосфора, калия, кальция, магния, серы, железа) на корневую систему.

Т а б л и ц а _ — Расчет адсорбирующей поверхности корневой системы

| Вариант | | Объем раствора метиленового синего в стакане, мг | Начальное содержание метиленового синего в стакане, мг | Осталось краски в растворе после погружения корней в стаканах, мг | Поглощено корнями краски из растворов в стаканах, мг | Поверхность корней, м ² | Удельная поверхность, м ² / мг |
|----------|---------------------|--|--|---|--|---|---|
| <i>V</i> | $V \cdot C_0 = A$ | 1 | 2 | 3 | | | |
| | $V \cdot C_1 = A_1$ | 1 | | | Поглощено корнями краски из растворов в стаканах, мг | Поверхность корней, м ² | Удельная поверхность, м ² / мг |
| | $V \cdot C_2 = A_2$ | 2 | | | | | |
| | $V \cdot C_3 = A_3$ | 3 | | | | | |
| | $A - A_1 = B_1$ | 1 | | | Поглощено корнями краски из растворов в стаканах, мг | Поверхность корней, м ² | Удельная поверхность, м ² / мг |
| | $A - A_2 = B_2$ | 2 | | | | | |
| | $B_1 + B_2 = B$ | 1 + 2 | | | | | |
| | $A - A_3 = C$ | 3 | | | Поверхность корней, м ² | Удельная поверхность, м ² / мг | |
| | $I, I \cdot B$ | общая | | | | | |
| | $I, I \cdot C$ | рабочая | | | | | |
| | | недеятельная | | | Поверхность корней, м ² | Удельная поверхность, м ² / мг | |
| | | общая | | | | | |
| | | рабочая | | | | | |

Рисунок 16 — Образец таблицы для заполнения

6 ОБМЕН И ТРАНСПОРТ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В РАСТЕНИЯХ

Лабораторная работа 11

Обмен и транспорт органических веществ в растениях

Работа 1 Определение активности амилаз в прорастающих семенах

Вводные пояснения

Крахмал относится к полисахаридам и представляет собой основное запасное вещество многих растений (кукуруза, картофель и др.). Однако из-за большой молекулярной массы крахмал нерастворим в воде и не может быть транспортирован за пределы клеток, в которых накапливается. К транспортным формам углеводов относятся моно- и дисахариды, которые могут образовываться при расщеплении крахмала особыми ферментами — α - и β -амилазами, относящимися к классу гидролаз. При их совместном действии гидролиз крахмала идет в основном до дисахарида мальтозы по следующей схеме:



Дальнейший гидролиз мальтозы до глюкозы катализирует фермент α -глюкозидаза (мальтаза). Наиболее высокая активность α - и β -амилазы характерна для прорастающих семян злаков, сухие же семена содержат небольшое количество малоактивной амилазы.

Активность амилазы характеризуется количеством (мл) крахмального клейстера, которое полностью гидролизуется 1 мл раствора амилазы за один час при температуре 40 °С.

Цель работы: сравнить активность амилазы в различных растительных тканях (сухих и проросших семян, клубнях и ростках картофеля и др.).

Материалы и оборудование: 0,2 %-й раствор крахмального клейстера, 0,3 %-й раствор йода в 3 %-м растворе йодида калия (KI), пробирки в штативах, ступки с пестиком, воронки, вата, стакан на 500 мл, пипетки на 1 и 10 мл, водяная баня или плитка, термометр, весы, центрифуга.

Ход работы

1. Приготовление ферментативной вытяжки

1.1. Сделать навеску 3 г из растительного материала (проросших или сухих семян пшеницы, ржи или ячменя, предварительно растертого на терке клубня картофеля, листьев растений или др.).

1.2. Навеску поместить в ступку, тщательно растереть до однородной массы, затем прилить 10 мл воды и продолжить растирание еще 5 мин.

1.3. Растертую массу перенести в центрифужные пробирки, центрифугировать 5 мин при 4-5 тыс. об. / мин.

1.4. Надосадочную жидкость слить в чистую пробирку и использовать как ферментативную вытяжку амилазы.

2. Приготовление раствора амилазы убывающей концентрации

2.1. Подготовить 10 пронумерованных пробирок.

2.2. В 9 пробирок, начиная со 2-й, налить по 1 мл дистиллированной воды.

2.3. В 1-ю и 2-ю пробирки внести по 1 мл приготовленной вытяжки амилазы; 1-ю пробирку с исходной вытяжкой оставить в штативе.

2.4. Из 2 мл смеси (вода + вытяжка), находящейся во 2-й пробирке, после перемешивания взять 1 мл и внести в 3-ю пробирку. Содержимое 3-й пробирки перемешать и 1 мл этой смеси внести в 4-ю пробирку и т. д. В 10-й пробирке также оставляют 1 мл смеси.

3. Определение гидролитической активности амилазы

3.1. В каждую пробирку, начиная с 10-й (с наименьшим содержанием фермента), добавить по 2 мл 0,1 %-го раствора крахмального клейстера.

3.2. Перемешав содержимое пробирок, поместить их в водяную баню с температурой 40 °С, которую все время поддерживать на одном уровне.

3.3. Через 30 мин все пробирки достать, расставить по порядку в штативах, долить в каждую по 7 мл воды, 4 капли раствора йода и перемешать.

3.4. Оценить окраску раствора после добавления йода и занести в таблицу (рис. 17): синяя — гидролиз крахмала не прошел, от сине-фиолетового до светло-розового — частичный гидролиз с образованием декстринов, слабо-желтая — полный гидролиз крахмала.

3.5. Сделать расчет гидролитической активности для различных растительных образцов по 1-й неокрашенной пробирке. Например, если в 5-й пробирке еще заметна реакция на декстрины (+), а в 4-й, содержащей 0,125 мл фермента, ее уже нет (–), то расчет ведут по 4-й пробирке:

0,125 мл амилазы разложило 2 мл крахмала за 30 мин, а 1,0 мл амилазы разложит X мл крахмала:

$$X = 2 \cdot 60 / 0,125 \cdot 30 = 32 \text{ мл.}$$

3.6. На основании полученных результатов делают вывод об активности амилазы в различных тканях.

Т а б л и ц а _ — Результаты анализа гидролитической активности амилазы

| № | Количество раствора амилазы в пробирке, мл | Наличие (+) или отсутствие (-) йодной реакции | Гидролитическая активность амилазы, мл крахмала за 1 ч |
|----|--|---|--|
| 1 | 1,0 | | |
| 2 | 0,5 | | |
| 3 | 0,25 | | |
| 4 | 0,125 | | |
| 5 | 0,062 | | |
| 6 | 0,031 | | |
| 7 | 0,016 | | |
| 8 | 0,008 | | |
| 9 | 0,004 | | |
| 10 | 0,002 | | |

Рисунок 17 — Образец таблицы для заполнения

7 РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ

Лабораторная работа 12

Влияние факторов окружающей среды на рост и развитие растений

Работа 1 Влияние света на рост и развитие растений

Вводные пояснения

Свет является одним из основных факторов, оказывающих воздействие на рост растений. Это воздействие может быть прямым или косвенным. Прямое действие света на рост растений связано непосредственно с работой фоторецепторов: фитохромов (красный / дальний красный), криптохромов и фототропинов (синий). В отсутствие света происходит этиоляция растений — они лишены хлорофилла, имеют белую или светло-желтую окраску, стебли у них вытянуты, листья недоразвиты, покровные, механические и проводящие ткани развиты очень слабо, накопления сухого вещества не происходит. Даже небольшого количества света достаточно, чтобы вызвать торможение роста растяжением и стимулировать дифференциацию клеток, а также инициировать биосинтез хлорофилла. Косвенное же действие света связано с тем, что он является

источником энергии для протекания процесса фотосинтеза, который, в свою очередь, обеспечивает веществом и энергией процессы роста.

Цель работы: проследить влияние света на рост проростков различных культур; сравнить изученные растения по их реакции на свет и темноту.

Материалы и оборудование: проросшие семена пшеницы, ячменя, овса, кукурузы, гороха, люпина, бобов или других культур, чашки Петри, промытые и пропаренные опилки, промытый песок, линейки, весы, миллиметровая бумага, термостат, шкаф, бюксы.

Ход работы

1. Выбрать проростки длиной 3-4 см.
2. Замерить высоту, определить число и размеры (длину и ширину) листьев, общую длину корневой системы, взвесить по 5 проростков (для каждого варианта). Все манипуляции проводить быстро, не допуская высыхания корней.
3. В две чашки Петри насыпают на $\frac{2}{3}$ их высоты промытые и пропаренные опилки или промытый песок, приливают по 10 мл воды или разведенного вдвое питательного раствора Кнопа и равномерно высаживают по 5 проростков.
4. 1-й вариант — растения поместить в темный шкаф на все время опыта, 2-й вариант — растения с момента высадки и до конца опыта поместить под естественное освещение.
5. Из оставшихся проростков взять по две навески 5—10 г и поместить в сушильный шкаф для определения процента сухого вещества и сухой массы проростков.
6. Через 7—14 дней (растения надо поливать) проанализировать растения по указанным выше параметрам, определить содержание сухого вещества, рассчитать сухую массу растений.
7. Полученные результаты записать в таблицу (рис. 18).
8. Найти среднее арифметическое по всем показателям (в отдельности) в каждом варианте. На основании полученных данных сделать вывод о влиянии света на рост растений.

Т а б л и ц а _ — Результаты анализа влияния света на рост

| Вариант | Номер растения | Высота проростков, см | | Число листьев, шт. | | Размеры листьев (длина, ширина), см | | Масса растений (сырая, сухая), г | |
|---------|----------------|-----------------------|--------|--------------------|--------|-------------------------------------|--------|----------------------------------|--------|
| | | 7 дн. | 14 дн. | 7 дн. | 14 дн. | 7 дн. | 14 дн. | 7 дн. | 14 дн. |
| | | | | | | | | | |

Рисунок 18 — Образец таблицы для заполнения

Работа 1 Влияние гетероауксинов на рост и развитие боковых корней

Вводные пояснения

Ауксины относятся к стимулирующим фитогормонам, которые обеспечивают апикальное доминирование побега и, хотя и подавляют рост боковых побегов, стимулируют рост боковых корней. Поэтому в практике широкое применение нашли препараты на основе гетероауксина (далее — ГА), использующиеся для укоренения черенков. Однако следует учитывать, что высокие концентрации ГА могут оказывать тормозящее действие на рост боковых корней. В связи с этим для каждой культуры и даже сорта необходимо подбирать оптимальные концентрации препарата, которые позволят наиболее быстро вызвать образование корней.

Цель работы: определить оптимальную концентрацию раствора ГА для лучшего укоренения черенков различных растений.

Материалы и оборудование: 10-дневные проростки фасоли, молодые растения томата, черенки смородины, малины, дикого винограда и других растений, 0,01 %-й раствор ГА, химические стаканы на 100 мл, пипетки, острые лезвия, кристаллизаторы.

Ход работы

1. Приготовить из стокового 0,01 %-го раствора ГА 3 раствора меньшей концентрации (0,001, 0,0001 и 0,00001 %-й) путем последовательного разведения в 10 раз (для приготовления 0,001 %-го берут 5 мл 0,01 %-го раствора и доводят объем водой до 50 мл, из этого раствора берут 5 мл в другой стакан и приливают 45 мл воды и т. д.).

2. Взять 20 одинаковых по высоте проростков фасоли или растений томатов, выращенных на опилках на водопроводной воде, и срезать под водой у основания. У нижней части черенков обновляют срез под водой.

3. В пронумерованные стаканы налить воду или растворы ГА в убывающей концентрации (по 45 мл) в соответствии с таблицей (рис. 19).

4. В каждый стакан с подготовленными растворами поместить по 4 черенка и выдержать 3 ч.

5. Через 3 ч черенки вынуть, ополоснуть и поместить в стаканы с 50 мл водопроводной воды, пронумерованные согласно вариантам опыта, оставить на свету при температуре 20—22 °С.

6. Через 5—7 дней образовавшиеся корни подсчитать и измерить их длину, результаты занести в таблицу (см. рис. 19).

7. Сделать вывод о влиянии концентраций ГА на образование корней у различных растений.

Т а б л и ц а _ — Влияние концентрации ГА на укоренение черенков

| Вид растения | Вариант опыта | Число образовавшихся корешков, шт. | | | | | Общая длина всех корешков, мм | | | | | |
|--------------|------------------------|------------------------------------|---|---|---|---------|-------------------------------|---|---|---|---------|--|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | среднее | 1 | 2 | 3 | 4 | среднее | |
| | Вода | | | | | | | | | | | |
| | 0,01 %-й раствор ГА | | | | | | | | | | | |
| | 0,001 %-й раствор ГА | | | | | | | | | | | |
| | 0,0001 %-й раствор ГА | | | | | | | | | | | |
| | 0,00001 %-й раствор ГА | | | | | | | | | | | |

Рисунок 19 — Образец таблицы для заполнения

Работа 2 Влияние гетероауксина на рост корней при прорастании

Вводные пояснения

Фитогормоны играют важную роль при прорастании семян. Одним из ключевых гормонов в данном процессе является гиббереллин, однако дальнейший рост проростков связан с увеличением концентрации ауксинов и цитокининов. В частности, ауксин необходим для роста корней.

Цель работы: определить оптимальную концентрацию ГА для роста корешков семян различных растений.

Материалы и оборудование: семена пшеницы и других растений, 0,01 %-й раствор ГА, чашки Петри, градуированные на 10 мл пипетки, кружки фильтровальной бумаги, стаканчики.

Ход работы

1. Приготовить по 10 мл раствора ГА в концентрациях 0,01, 0,001, 0,0001 и 0,00001 % (способ приготовления — в работе 1, с. 37).

2. В пронумерованные согласно схеме опыта пять чашек Петри положить по кружку фильтровальной бумаги и налить по 9 мл воды и 0,01-, 0,001-, 0,0001- и 0,00001 %-го раствора ГА.

3. В каждую чашку на смоченную фильтровальную бумагу разложить 5 семян, закрыть крышкой и поставить в темноту.

4. Ежедневно вести наблюдения, на 5-6-й день подсчитать количество корешков и измерить их длину по каждому варианту опыта в отдельности.

5. Результаты опыта занести в таблицу (рис. 20), сделать соответствующие выводы.

Т а б л и ц а _ — Влияние концентрации ГА на рост корней

| Варианты опыта | Количество проросших семян, шт. | Среднее у одного проросшего зерна | |
|------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| | | количество корешков, шт. | общая длина корешков, мм |
| Вода | | | |
| 0,01 %-й раствор ГА | | | |
| 0,001 %-й раствор ГА | | | |
| 0,0001 %-й раствор ГА | | | |
| 0,00001 %-й раствор ГА | | | |

Рисунок 20 — Образец таблицы для заполнения

Лабораторная работа 14 Онтогенез растений

Работа 1 Определение этапов органогенеза у яровых зерновых культур

Вводные пояснения

В ходе своего роста и развития растения проходят определенные этапы, каждый из которых характеризуется рядом морфологических и биохимических признаков. В частности, у злаков помимо основных этапов онтогенеза принято выделять 12 этапов (по Куперман), каждый из которых имеет свои особенности (рис. 21, табл. 2).

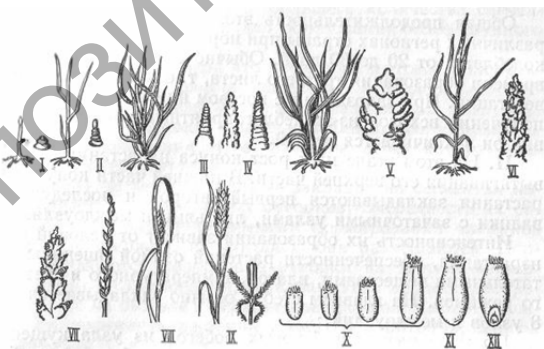


Рисунок 21 — Схематические изображения растений и апикальных меристем на разных этапах (по Куперман) (описание в тексте)

Т а б л и ц а 2 — Соотношение кодовых обозначений отдельных фенофаз роста и развития хлебных злаков по различным шкалам

| Фазы роста и развития | По междуна- родной клас- сификации | Этапы органогенеза (по Куперман) |
|--|--|--|
| Прорастание: | | |
| сухая зерновка | 0 | |
| набухшая зерновка | 3 | |
| появление первичного корешка | 5 | |
| появление coleoptilya | 7 | |
| Всходы (выход coleoptilya на поверхность почвы) | 10 | |
| Появление первых листьев: | | I |
| первого | 11 | |
| второго | 12 | |
| третьего | 13 | |
| четвертого и последующих (до девятого) | 14—19 | |
| Кущение: | | |
| боковой стебель во влагалище | 20 | |
| начало кущения, развиты главный и 1 боковой стебель | 21 | I—II |
| полное кущение, развиты главный и 5 боковых стеблей | 25 | II |
| конец кущения (листовое влагалище начинает удлиняться) | 29 | II—III |
| Выход в трубку: | | |
| начало фазы | 30 | III—IV |
| над поверхностью почвы на главном стебле замечен первый узел | 31 | V |
| замечен второй узел | 32 | V—VI |
| замечены третий—шестой узлы | 33—36 | V—VI |
| последний лист выходит из влагалища | 37 | VI—VII |
| появление язычка у последнего листа | 39 | VII |
| набухание листовых влагалищ верхнего листа | 43 | |

Продолжение табл. 2

| | | |
|--|----|------|
| Колошение: | | |
| начало (замечен первый колосок) | 51 | VIII |
| выколосилась $\frac{1}{4}$ колоса | 53 | |
| выколосилась $\frac{1}{2}$ колоса | 55 | |
| выколосилось $\frac{3}{4}$ колоса | 57 | |
| виден целый колос | 59 | |
| Цветение: | | |
| начало (появляются первые пыльники) | 61 | IX |
| полное цветение | 65 | |
| конец | 69 | |
| Формирование зерновки (первые зерновки достигли конечного размера, их содержимое водянистое) | 70 | X |
| Молочная спелость: | | |
| ранняя | 71 | XI |
| средняя | 75 | |
| поздняя | 77 | |
| Восковая спелость (содержимое зерновки мягкое, пластичное) | 85 | XII |
| Желтая спелость | 87 | |
| Полная спелость (зерновка твердая, растение засохшее, отмирает) | 91 | |

I. От набухания до прорастания семени и появления всходов, меристема не дифференцирована.

II. Дифференциация основания конуса нарастания на зачаточные узлы, междоузлия и стеблевые листья.

III. Вытягивание и сегментация конуса нарастания — зачаточной оси колоса. С началом кушения образуются вторичные (узловые) корни.

IV. Формирование колосковых бугорков (конуса нарастания второго порядка). Растут нижние междоузлия. Начало выхода в трубку.

V. Формирование цветков в колосках. Первыми начинают дифференцироваться колосковые бугорки в средней части колоса, а затем процесс идет вверх и вниз вдоль оси. Продолжается выход в трубку.

VI. Формирование пыльниковых мешков и завязи пестика. Идет рост тычинок, пестика и покровных органов цветка. Усиленно растут средние междоузлия. Стеблевание.

VII. Завершение процесса формирования пыльцы. Усиливается рост тычиночных нитей. Начинается интенсивный рост члеников соцветия и покровных органов цветка, а также верхних междоузлий. Стеблевание.

VIII. Завершается процесс формирования всех органов соцветия и цветка. Усиленно растет самое длинное верхнее междоузлие. Идет выколашивание.

IX. Цветение, оплодотворение, образование зиготы. Рост междоузлий стебля прекращается.

X. Формируются зерновки. К концу этапа зерновки достигают типичной для сорта длины.

XI. Накопление питательных веществ в зерновках (налив), идет их рост в толщину и ширину; фазы молочного и тестообразного состояния.

XII. Рост зерновки прекращается, наступает восковая и полная спелость. Накопленные в зернах питательные вещества превращаются в запасные.

По международной классификации насчитывается 91 стадия роста злаков (табл. 2) с отдельной фазой для появления каждого листа на этапе появления первых листьев, каждого бокового побега на этапе кущения и т. д.

Цель работы: определить этап органогенеза у растений яровых зерновых разного возраста.

Материалы и оборудование: растения пшеницы разного возраста, гербарные материалы, увеличительные стекла.

Ход работы

1. Изучить и на основании имеющегося описания определить фазу роста и развития, а также этапы органогенеза (по Куперман).
2. Записать полученные данные, указав возраст растений.

8 ПРИСПОСОБЛЕНИЕ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ

Лабораторная работа 15 Определение солеустойчивости растений

Работа 1 Влияние концентрации раствора на прорастание семян Вводные пояснения

Устойчивость растений к повышенному содержанию солей в почве называется солеустойчивостью. Вредное действие засоления почвы проявляется прежде всего в том, что задерживается набухание семян, т. е. снижается их всхожесть и интенсивность роста проростков. К косвенным лабораторным методам определения солеустойчивости растений относятся: плазмолитический, определение скорости раскрытия устьиц в растворах солей, по количеству альбуминов, по проницаемости протоплазмы и др. По интенсивности ростовых процессов показателем солеустойчивости является количество проросших в растворах соли семян по сравнению с их прорастанием в дистиллированной воде.

Цель работы: определить солеустойчивость различных растений.

Материалы и оборудование: семена ячменя, кукурузы, томата, 5-, 7- и 10 %-е растворы NaCl, раствор формалина (1 мл на 300 мл воды), чашки Петри, кружки фильтровальной бумаги, пипетки.

Ход работы

1. Семена предварительно обработать раствором формалина в течение 3—5 мин, а чашки Петри и фильтровальную бумагу простерилизовать.
2. Отобранные 10—25 семян разложить в 2 чашки Петри.
3. В чашки налить по 10 мл растворов согласно таблице (рис. 22), оставить при комнатной температуре на 5—7 дней.
4. Определить число проросших семян и найти среднее по двум повторностям. Число проросших семян в воде принимают за 100 %, а в растворах соли вычисляют в процентах от контроля.
5. Результаты опыта записать в таблицу (см. рис. 22), сделать выводы.

Т а б л и ц а _ — Определение солеустойчивости растений

| Вид растений | Вариант опыта | Число проросших семян, % | | | Выводы о солеустойчивости растений |
|--------------|---------------|--------------------------|---|---------|------------------------------------|
| | | 1 | 2 | среднее | |
| | Вода | | | | |
| | 5 % NaCl | | | | |
| | 7 % NaCl | | | | |
| | 10 % NaCl | | | | |

Рисунок 22 — Образец таблицы для заполнения

9 ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФОРМИРОВАНИЯ УРОЖАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Лабораторная работа 16

Физиолого-биохимические основы формирования урожая сельскохозяйственных культур

Работа 1 Определение содержания крахмала поляриметрическим методом

Вводные пояснения

Крахмал — основной запасной полисахарид, построенный из остатков α -глюкозы. Содержание его в растении зависит от многих факторов: свойств почвы, климата, сорта, сроков уборки, удобрения и др. Знание этих зависимостей позволяет управлять процессом накопления крахмала в урожае.

При поляриметрическом методе определения содержания крахмала предварительно осуществляют его химический гидролиз с помощью соляной кислоты. В полученном гидролизате, содержащем глюкозу, измеряют угол вращения поляризованного угла света. Эта величина пропорциональна концентрации глюкозы в растворе. Определение угла вращения производят в монохромном желтом свете при длине волны 589,3 нм в поляриметре СУ-2.

Цель работы: освоить поляриметрический метод определения содержания крахмала в урожае ряда сельскохозяйственных культур.

Материалы и оборудование: 25 %-я соляная кислота; 5 %-й раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты или железисто-синеродистый цинк-калий (осадитель состоит из двух отдельно хранящихся растворов: 1—15 % железисто-синеродистого калия и 2—30 % сульфата цинка); поляриметр СУ-2, колбочки, фарфоровые чашки, часовое стекло, водяная баня, фильтры.

Ход работы

1. Взвесить навеску исследуемого материала: 1,5—2,0 г муки семян злаковых и зернобобовых культур, 5 г мезги картофеля, — используя фарфоровую чашку или часовое стекло.

2. Навеску перенести через воронку в мерную колбу на 100 мл, смывая дистиллированной водой в объеме 50 мл.

3. Добавить в колбу 3 мл 25 %-й соляной кислоты, перемешать и поместить колбу в сильно кипящую водяную баню, где при частом встряхивании выдержать в течение 15 мин.

4. Охладить колбу под водопроводной водой, довести объем дистиллированной водой до 75—80 мл.

5. Для осаждения белков и осветления раствора глюкозы в колбу прилить 5 мл раствора 5 %-й фосфорно-вольфрамовой кислоты (можно заменить сульфатом цинка и железисто-синеродистым калием) и после взбалтывания довести объем дистиллированной водой до 100 мл.

6. Колбу закрыть пробкой, содержимое тщательно перемешать и отфильтровать через двойной складчатый фильтр в сухую колбу.

7. Чистым прозрачным фильтром заполнить поляризационную трубку длиной 200 мм, надвинуть стеклышко трубки так, чтобы не осталось пузырьков воздуха, завинтить шайбу и измерить угол вращения плоскости поляризации.

8. Содержание крахмала (%) определить по формуле

$$X = a \cdot V \cdot 0,3465 \cdot 100 / H \cdot l \cdot 1,81,$$

где a — угол вращения, найденный при отсчете в поляриметре;

V — объем экстракта, мл;

0,3465 — коэффициент поляризации крахмала;

100 — коэффициент для перевода в проценты;

H — навеска анализируемого вещества, г;

l — длина трубки, дм;

1,81 — коэффициент (по Эверсу) для зерновых культур.

Коэффициент Эверса для картофельного крахмала равен 1,78 при условии, что навеска была 5 г, объем экстракта — 100 мл, длина трубки — 200 мм.

9. Полученные данные занести в таблицу (рис. 23) и сделать выводы о содержании крахмала в разных культурах.

Т а б л и ц а _ — Содержание крахмала в растительных материалах

| Культура | Объем экстракта, мл | Навеска анализируемого вещества, г | Содержание крахмала, % |
|----------|---------------------|------------------------------------|------------------------|
| | | | |

Рисунок 23 — Образец таблицы для заполнения

Работа 2 Определение общей кислотности растительных тканей

Вводные пояснения

В растениях присутствуют разнообразные органические кислоты, однако наиболее часто встречаются лимонная, изолимонная, яблочная, янтарная и щавелевая.

Метод основан на извлечении органических кислот из растительного материала водой при 30-минутном нагревании до 80—90 °С и титровании их раствором щелочи. При этом нейтральные соли органических кислот почти не учитываются. Титруют в основном свободные кислоты и кислые соли органических кислот.

Цель работы: сравнить общую кислотность различных растительных объектов и сделать вывод о направленности биохимических процессов.

Материалы и оборудование: 1 %-й спиртовой раствор фенолфталеина, 0,1 н раствор NaOH, фарфоровые ступки, широкогорлые колбы на 200 мл, водяная баня, стаканчики на 200 мл, конические колбочки на 100 мл, бюретка для титрования, пипетки, плоды и листья различных растений.

Ход работы

1. Навеску растительного материала массой 10 г тщательно измельчить на терке или растереть в ступке и перенести без потерь в широкогорлую колбу объемом 200 мл, используя дистиллированную воду.

2. Объем смеси в колбе довести дистиллированной водой до 150 мл и выдержать в течение 30 мин на водяной бане при температуре 80 °С, взбалтывая каждые 5 мин.

3. Охладить жидкость в колбе и довести до объема 200 мл, взболтать и отфильтровать в сухой стакан или колбу.

4. 50 мл фильтрата перенести в коническую колбу на 100 мл.

5. В колбу добавить несколько капель спиртового раствора фенолфталеина и титровать 0,1 н раствором NaOH до розовой окраски.

В том случае, если исследуемый раствор сильно окрашен и переход окраски при титровании определить трудно, используют индикаторную бумагу. Капли жидкости из колбы при титровании переносят на индикаторную бумагу и наблюдают изменение окраски.

6. Рассчитать общую кислотность, мэкв / 100 г, навески по формуле

$$X = a \cdot T \cdot 200 \cdot 100 / H \cdot 50 \cdot 10,$$

где a — объем 0,1 н NaOH, пошедший на титрование, мл;

T — поправка к титру щелочи;

200 — общий объем вытяжки, мл;
100 — перевод на 100 г навески;
 H — масса навески материала, г;
50 — объем фильтра, взятый для титрования, мл;
10 — перевод в миллиэквиваленты кислот (1 мл 0,1 н раствора NaOH соответствует 0,1 мэкв кислоты).

7. Выразить кислотность в процентах по преобладающей кислоте: для плодов и овощей — в яблочной, ягод — в лимонной, винограда — в винной. Коэффициенты перевода (количество граммов данной кислоты, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора NaOH) составляют: для яблочной — 0,0067; щавелевой — 0,0045; лимонной — 0,0064; винной — 0,0075.

8. Сделать вывод о содержании органических кислот в различных растительных образцах.

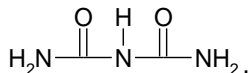
Лабораторная работа 17

Особенности накопления белков

Работа 1 Определение содержания суммарных белков

Вводные пояснения

В зависимости от имеющегося оборудования содержание белков можно определять различными способами. Биуретовый метод основан на способности белка в щелочной среде реагировать с серно-кислой медью по месту пептидных связей. Образующиеся солеобразные комплексные соединения окрашивают раствор в сине-фиолетовый или красно-фиолетовый цвет. Такое же окрашивание дает взаимодействующий с серно-кислой медью в щелочной среде биурет, имеющий следующее строение:



Окрашенные белковые растворы колориметрируют и рассчитывают содержание в них белка. Реакцию дают все белки и полипептиды, начиная с тетрапептидов.

Цель работы: определить и сравнить содержание белка в муке зерновых и зернобобовых культур.

Материалы и оборудование: 1-й раствор — 4 %-й раствор NaOH в 20 %-м растворе этилового спирта — спиртовая щелочь (для злаков), 2-й раствор — 5 %-й раствор NaCl в 4 %-м водном растворе NaOH

(для семян зернобобовых культур), 3-й раствор — 3,1 %-й раствор медного купороса (5 г $CuSO_4$ в 95 мл воды), мука из семян злаков или зернобобовых культур, ФЭК-М, центрифуга, ступки, пробирки, пипетки, торсионные весы.

Ход работы

Для анализа используют муку тонкого помола зерновых или зернобобовых культур. Предварительно семена овса, риса, проса, люпина, бобов и других культур, имеющих окрашенную плотную пленку или оболочку, освобождают от последних. Перед анализом муку данных культур подсушивают при температуре 80 °С (около 6-7 ч), а затем при температуре 105 °С (не более 3 ч).

1. Отвесить 200 мг муки, поместить в фарфоровую ступку, прилить постепенно при постоянном перемешивании 10 мл 1-го раствора в муку из семян злаков или 2-го раствора в муку из семян зернобобовых культур и растереть 15 мин.

2. Прилить еще 25 мл 1-го раствора и 5 мл 3-го раствора, аккуратно перемешивать содержимое ступки еще 15 мин и оставить на 1,5—2,0 ч. За этот период произойдет образование биуретового комплекса и окраска станет сине-фиолетовой.

3. Окрашенные растворы отфильтровать через стеклянный фильтр или центрифугировать 15 мин при 5-6 тыс. об. / мин.

4. Оптическую плотность растворов определить на ФЭК-М при длине волны 540 нм в кюветах шириной 5 или 10 мм.

5. Содержание белка найти по калибровочной кривой, которую строят для каждой культуры на основании показаний оптической плотности и содержания сырого белка (рассчитывают по общему азоту) или белка (рассчитывают по белковому азоту).

6. Полученные данные записать в таблицу (рис. 24), сделать вывод о содержании белков в различных культурах.

Т а б л и ц а _ — Результаты определения содержания белков в семенах различных культур

| Культура | Оптическая плотность растворов | Количество белка по калибровочной кривой, мг / мл | Содержание белка, % |
|----------|--------------------------------|---|---------------------|
| | | | |

Рисунок 24 — Образец таблицы для заполнения

Расчеты содержания белка, %, ведут по формуле

$$X = A \cdot B \cdot 100 / H,$$

где X — содержание белка, %;

A — содержание белка по калибровочной кривой, мг в 1 мл;

B — объем раствора белка, окрашенного биуретом, мл;

100 — коэффициент для пересчета содержания белка, %;

H — масса навески муки, мг.

Лабораторная работа 18 *Особенности накопления азотистых соединений*

Работа 1 Определение содержания и свойств клейковины

Вводные пояснения

В зерне некоторых злаков (пшеницы, ячменя, ржи) содержится специфический комплекс белковых веществ — клейковина. Ее химический состав не постоянен, но не менее 80 % составляют спирторастворимые и щелочерастворимые белки — глиадины и глютелины. Клейковина определяет хлебопекарные качества пшеницы. От количества и качества клейковины зависит так называемая сила муки. Для выпечки хлеба желательна мука с высоким содержанием белка, а для изготовления кондитерских изделий используют муку с низким содержанием белка.

В зависимости от условий выращивания пшеницы, ее сортовых особенностей содержание клейковины в зерне изменяется и может колебаться от 20 до 50 %. Количество клейковины, отмываемой из определенной навески пшеничной муки или размолотого зерна, называют выходом клейковины. Различают выход сырой и сухой клейковины.

Цель работы: сравнить содержание и свойства клейковины в различных сортах муки пшеницы.

Материалы и оборудование: мука из семян разных сортов пшеницы и тритикале, шпатель, фарфоровая ступка, бюретки, сито.

Ход работы

1. Отвесить 10 г муки из семян пшеницы или тритикале, поместить навеску в фарфоровую чашку, прилить из бюретки 7 мл водопроводной воды с температурой 18—20 °С.

2. Шпателем замешивать тесто в один комок до тех пор, пока оно не станет однородным. Приставшие к шпателю или фарфоровой чашке частицы очистить ножом и присоединить к общему куску теста.

3. Полученное тесто тщательно размять руками, скатать в виде шара, положить в чашку и залить водой так, чтобы она его покрыла. Оставить на 20 мин, чтобы все частицы муки равномерно пропитались водой.

4. После этого тесто поместить в большую чашку, прилить около 1 л водопроводной воды с температурой 18—20 °С и отмыть клейковину от крахмала и других веществ, опуская тесто в воду и разминая его пальцами. Отмывать необходимо очень осторожно, чтобы вместе с крахмалом не удалились частицы клейковины. Промывную воду по мере накопления в ней крахмала меняют 3-4 раза, процеживая через густое сито для сбора оторвавшихся кусочков клейковины.

5. Когда клейковина станет более связной и упругой, дальнейшее отмывание крахмала вести более энергично под слабой струей водопроводной воды над густым ситом. Отмывать до тех пор, пока вода, стекающая при отжатии клейковины, не станет прозрачной и не будет содержать крахмала (реакция на крахмал раствором йода в йодиде калия).

6. Отмытую клейковину с силой отжать руками от избытка воды (насколько это возможно) и скатать ладонями в шарик, положить в бюкс и взвесить с точностью до 0,01 г — определить вес сырой клейковины.

7. Рассчитать процентное содержание сырой клейковины во взятом образце.

8. Определить содержание сухой клейковины: бюкс поставить в термостат и сушить при 100—105 °С до постоянной массы. После охлаждения в эксикаторе бюкс с клейковиной опять взвесить для определения сухой массы клейковины.

9. Рассчитать процент сухой клейковины и сравнить ее содержание в муке разных сортов, сделать вывод.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. *Викторов, Д. П.* Малый практикум по физиологии растений : учеб. пособие для биол. специальностей вузов / Д. П. Викторов. — 3-е изд., перераб. и доп. — М. : Высш. шк., 1983. — 135 с.
2. *Кузнецов, В. В.* Физиология растений : учеб. для студентов агр. специальностей вузов / В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. — М. : Высш. шк., 2005. — 736 с.
3. *Лемеза, Н. А.* Практикум по экологии растений : учеб. пособие / Н. А. Лемеза, И. И. Смолич. — Минск : БГУ, 2004. — 59 с.
4. *Медведев, С. С.* Физиология растений : учебник / С. С. Медведев. — СПб. : БХВ-Петербург, 2012. — 512 с.
5. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков [и др.] ; под ред. А. И. Ермакова. — 3-е изд., перераб. и доп. — Л. : Агропромиздат, 1987. — 430 с.
6. *Плешков, Б. П.* Биохимия сельскохозяйственных растений : учеб. для студентов вузов / Б. П. Плешков. — Изд. 5-е, перераб. и доп. — М. : Агропромиздат, 1987. — 494 с.
7. Практикум по физиологии растений : учеб. пособие / Н. Н. Третьяков [и др.] ; под ред. Н. Н. Третьякова. — М. : Колос, 2003. — 288 с.
8. *Тарасенко, С. А.* Физиология и биохимия растений : практикум / С. А. Тарасенко, Е. И. Дорошкевич. — Гродно : ГГАУ, 2004. — 210 с.
9. Физиология и биохимия растений : метод. указания / сост. И. П. Решецкий [и др.] ; Белорус. гос. с.-х. акад. — Горки : БГСХА, 2000. — 144 с.
10. Физиология растительной клетки : метод. рекомендации к лаб. занятиям практикума «Физиология растений» для студентов биол. фак. / В. М. Юрин [и др.]. — Минск : БГУ, 2009. — 28 с.
11. *Филипцова, Г. Г.* Биохимия растений : метод. рекомендации к лаб. занятиям, задания для самостоят. работы студентов / Г. Г. Филипцова, И. И. Смолич. — Минск : БГУ, 2004. — 60 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|---|----|
| <i>Предисловие</i> | 3 |
| 1 СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ | |
| <i>Лабораторная работа 1</i> Физико-химические свойства цитоплазмы растительной клетки | 4 |
| <i>Лабораторная работа 2</i> Химический состав растительной клетки: сахара и липиды | 6 |
| <i>Лабораторная работа 3</i> Химический состав растительной клетки: белки.... | 10 |
| <i>Лабораторная работа 4</i> Влияние условий среды на протекание ферментативных реакций..... | 14 |
| 2 ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ | |
| <i>Лабораторная работа 5</i> Определение транспирации растений | 16 |
| 3 ФОТОСИНТЕЗ | |
| <i>Лабораторная работа 6</i> Разделение пигментов растительной клетки | 18 |
| <i>Лабораторная работа 7</i> Количественное определение фотосинтетических пигментов | 20 |
| <i>Лабораторная работа 8</i> Интенсивность фотосинтеза | 22 |
| 4 ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ | |
| <i>Лабораторная работа 9</i> Дыхание растительной клетки | 27 |
| 5 МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ | |
| <i>Лабораторная работа 10</i> Роль корневой системы | 30 |
| 6 ОБМЕН И ТРАНСПОРТ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В РАСТЕНИЯХ | |
| <i>Лабораторная работа 11</i> Обмен и транспорт органических веществ в растении | 33 |
| 7 РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ | |
| <i>Лабораторная работа 12</i> Влияние факторов окружающей среды на рост и развитие растений | 35 |
| <i>Лабораторная работа 13</i> Влияние факторов внутренней среды на рост и развитие растений..... | 37 |
| <i>Лабораторная работа 14</i> Онтогенез растений | 39 |
| 8 ПРИСПОСОБЛЕНИЕ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ | |
| <i>Лабораторная работа 15</i> Определение солеустойчивости растений | 43 |
| 9 ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФОРМИРОВАНИЯ УРОЖАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР | |
| <i>Лабораторная работа 16</i> Физиолого-биохимические основы формирования урожая сельскохозяйственных культур | 44 |
| <i>Лабораторная работа 17</i> Особенности накопления белков | 47 |
| <i>Лабораторная работа 18</i> Особенности накопления азотистых соединений | 49 |
| СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ | 51 |