

**Министерство сельского хозяйства Российской Федерации**  
**Федеральное государственное бюджетное образовательное**  
**учреждение**  
**высшего образования**  
**«Саратовский государственный аграрный университет**  
**имени Н.И. Вавилова»**

**Методические указания**  
**по выполнению лабораторных работ**  
**по дисциплине «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»**

**для обучающихся 1 курса**

**Направление подготовки**  
**35.03.07 Технология производства и переработки**  
**сельскохозяйственной продукции**

**Профиль подготовки**  
**Технологии пищевых производств в АПК**

**Саратов 2018**

## Лабораторное занятие 1.

### Избирательная проницаемость протоплазмы

Протоплазма живой растительной клетки обладает избирательной проницаемостью, т.е. способностью пропускать или не пропускать через себя определенные вещества.

С избирательной проницаемостью протоплазмы можно ознакомиться, используя водный раствор метиленовой сини и хлористого натрия. Если протоплазма и вакуолярный сок окрашиваются, значит вещество проникло в клетку. В противном случае протоплазма была бы бесцветной. Если вещество не проникает внутрь клетки, то через некоторое время произойдет отставание протоплазмы от оболочки (плазмолиз).

**Цель работы** – ознакомиться с особенностями проникновения красителя и солей в растительную клетку.

### Порядок выполнения работы

В фарфоровую чашку наливают слабый водный раствор метиленовой сини и погружают в него небольшие кусочки эпидермиса лука. Для этого из средней части луковицы в поперечном направлении вырезают кружок, разрезают его на секторы (не более 0,5 см по окружности) и пинцетом снимают эпидермис с вогнутой поверхности. Через 45-60 мин метиленовую синь сливают, эпидермис промывают водой, кладут в каплю воды на предметное стекло и покрывают покровным стеклом.

Препарат исследуют под микроскопом и отмечают, произошло ли окрашивание протоплазмы и вакуолярного сока. Затем эпидермис исследуют на проницаемость его по отношению к NaCl. Для этого под покровное стекло вводят каплю 5%-го раствора NaCl и устанавливают, произошло ли явление плазмолиза (рис. 1.).

Полученные в опытах данные записать в тетрадь, выполнить зарисовки объектов, сделать выводы.

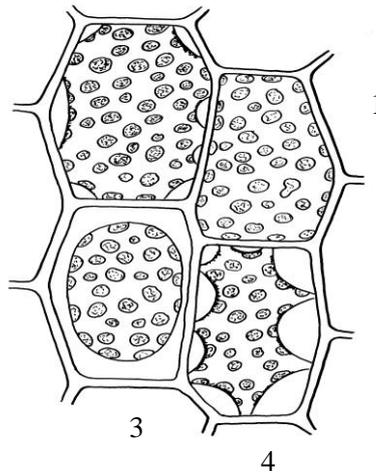


Рис.1. Последовательные стадии плазмолиза: 1. клетка в тургесцентном состоянии (плазмолиз отсутствует); 2. начало отставания протоплазмы от оболочки; 3. выпуклый плазмолиз; 4. вогнутый плазмолиз

**Материалы и оборудование:** луковица, водный раствор метиленовой сини, 5% -й раствор NaCl, H<sub>2</sub>O; микроскопы, предметные и покровные стекла, препаровальные иглы, фарфоровые чашки.

## Лабораторное занятие 2.

### Влияние внешних факторов на проницаемость протоплазмы

Протоплазма обладает избирательной проницаемостью, если не нарушена ее живая структура. При коагуляции биокolloидов свойство избирательной проницаемости утрачивается, и все растворимые вещества клетки свободно выходят во внешнюю среду.

Структура протоплазмы нарушается при воздействии высокой и низкой температур, солей тяжелых металлов, спирта, кислот и других веществ.

**Цель работы** – установить характер ответных реакций клетки на повреждающие воздействия

### Порядок выполнения работы

Очищенную столовую свеклу нарезают кусочками одинакового размера (5 x 5мм), тщательно промывают их водопроводной водой и помещают по десять штук в пять пробирок. В первые две пробирки наливают по 10 мл воды, в третью, четвертую и пятую – 30 %-ю уксусную кислоту, 20%-ю соляную кислоту, 10%-ю щёлочь по 10 мл соответственно. Первая пробирка контрольная. Содержимое второй пробирки кипятят в течение нескольких минут.

Через 45-60 мин все пробирки встряхивают, кусочки свёклы извлекают и сравнивают количество вышедшего из клеток пигмента в разных вариантах опыта при помощи КФК-2 (колориметра фотоэлектрического концентрационного) на синем светофильтре. Интенсивность окраски устанавливают по коэффициенту пропускания исследуемого раствора в процентах.

Для наблюдения за состоянием клеток делают тонкие срезы из кусочков свёклы контрольного варианта (первая пробирка) и варианта с наиболее интенсивным выходом веществ. Помещают их на предметное стекло в каплю 1 М раствора NaCl, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом.

На основании проведенных наблюдений сделать выводы о степени повреждения цитоплазмы. Выполнить зарисовки.

**Материалы и оборудование:** столовая свёкла, 20%-й раствор соляной кислоты, 30%-й раствор уксусной кислоты, 10%-й раствор щёлочи, 1 М раствор NaCl, H<sub>2</sub>O; микроскопы, КФК-2, штативы с пятью пробирками, линейки, мерные пробирки, предметные и покровные стекла.

## Лабораторное занятие 3.

### Определение осмотического давления клеточного сока методом плазмолиза

В физиологии растений применяют два метода определения осмотического давления: криоскопический (определяется точка замерзания отжатого вакуолярного сока) и плазмолитический. Последний метод основан на том, что при погружении клетки в какой-либо раствор плазмолиз будет тем сильнее, чем выше концентрация наружного раствора по сравнению с вакуолярным соком. Можно подобрать такой раствор, который будет вызывать самый слабый плазмолиз – легкое отставание плазмы, обычно в острых углах клетки (рис. 7). Такой плазмолиз указывает на то, что наружный раствор очень немного превышает концентрацию вакуолярного сока. В качестве плазмолитиков применяются растворы сахара и нейтральных солей, не действующих токсически на плазму.

**Цель работы** – освоить метод определения осмотического давления для объектов с крупными клетками.

### Порядок выполнения работы

Готовят растворы NaCl убывающей концентрации (1,0; 0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 М) и по 10 мл наливают в бюксы.

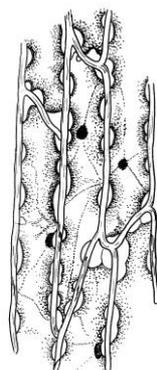


Рис. 7. Начальная стадия плазмолиза

В качестве исходного берется 1,0 М раствор, т.е. содержащий грамм-молекулу вещества на 1 л воды. Для приготовления 0,8 М раствора нужно взять 8 мл 1,0-молярного раствора и 2 мл дистиллированной воды из соответствующих бюреток; для приготовления 0,6-молярного – 6 мл 1,0-молярного раствора и 4 мл воды и т. д.

Растворы после приготовления тщательно перемешивают и в каждую из бюксов, начиная с 1,0 М, помещают по 2 кусочка эпидермиса чешуи лука. Записывают время погружения эпидермиса в бюксы.

Через 30 мин эпидермисы вынимают поочередно, начиная с самой высокой концентрации, и рассматривают под микроскопом в капле соответствующего раствора. Стеклопалочку, которой наносили капли раствора, необходимо каждый раз ополаскивать водой и вытирать.

Установив концентрацию изотонического раствора, в котором обнаружен слабый плазмолиз (отставание протоплазмы по уголкам), вычисляют величину осмотического давления, атм. по формуле:

$$P = RTC_i$$

где P – осмотическое давление, атм;

R – универсальная газовая постоянная (0,0821);

T – абсолютная температура (273 + t°C);

C – концентрация раствора, М;

i – изотонический коэффициент (табл. 12).

Таблица

**Значение изотонического коэффициента для раствора NaCl**

Концентрация NaCl, М	1,0	0,8	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Изотонический коэффициент	1,52	1,64	1,68	1,70	1,73	1,75	1,78	1,83

Запись ведут по следующей форме:

Концентрация	Продолжительность пребывания эпидермиса в растворе		Результаты наблюдений	
	время погружения	время наблюдения	степень плазмолиза	рисунок
1,0				
0,8				
0,6				
0,5				
0,4				
0,3				
0,1				

Сделать вывод о величине осмотического давления объекта

**Материалы и оборудование:** луковица, 1 М раствор NaCl, H<sub>2</sub>O; микроскоп, предметные и покровные стекла, бюксы, штатив с бюретками, фильтровальная бумага, препаровальные иглы,

#### Лабораторное занятие 4.

##### Знакомство с движением устьиц

При помощи движения устьиц растения регулируют транспирацию (испарение воды листьями).

**Цель работы** – проследить за движением замыкающих клеток устьиц.

##### Порядок выполнения работы

В фарфоровую чашку наливают немного 5%-го раствора глицерина, помещают кусочек эпидермиса, снятого с нижней поверхности листа амариллиса или традесканции, и оставляют на 1-1,5 ч. По истечении времени эпидермис вынимают, помещают на предметное стекло в каплю глицерина, покрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. Отсутствие светлой щели указывает на закрытость устьиц.

Фильтровальной бумагой из-под покровного стекла оттягивают глицерин и заменяют его водой. Через 3-4 мин можно обнаружить открывание устьиц (светлая щель).

Видимые под микроскопом устьица зарисовывать и делают вывод о влиянии воды на их движение.

**Материалы и оборудование:** листья амариллиса или традесканции, 5%-ный раствор глицерина, H<sub>2</sub>O; микроскопы, предметные и покровные стекла, препаровальные иглы, фильтровальная бумага.

#### Лабораторное занятие 5.

##### Пигменты зеленого листа и физико-химические свойства хлорофилла

Пигментная система хлоропласта представлена двумя типами пигментов: зелеными – хлорофиллами *a* и *b* и желтыми – каротинами и ксантофиллами. Однако основным функциональным пигментом является хлорофилл *a*. Именно он служит непосредственным донором энергии для фотосинтетических реакций, остальные пигменты лишь передают поглощенную ими энергию хлорофиллу *a*.

По химической природе хлорофиллы – сложные эфиры дикарбоновой кислоты хлорофиллина  $C_{32}H_{30}ON_4Mg(COOH)_2$  и двух спиртов – метилового  $CH_3OH$  и одноатомного непредельного спирта фитола  $C_{20}H_{39}OH$ .

Хлорофилл *a*:  $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$  – зеленый с синеватым оттенком.

Хлорофилл *b*:  $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$  – зеленый с желтоватым оттенком.

Каротин:  $C_{40}H_{56}$  – желто-оранжевый.

Ксантофилл:  $C_{40}H_{56}O_2$  – золотисто-желтый.

Все эти пигменты в воде не растворяются, но растворяются в органических растворителях (спирте, бензине, ацетоне, бензоле и др.).

**Цель работы** – получение спиртовой вытяжки из зеленых листьев и ознакомление с некоторыми свойствами пигментов.

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

Свежие листья измельчают ножницами, помещают в ступку, добавляют немного чистого кварцевого песка и растирают до гомогенной массы, понемногу приливая этиловый спирт. Вытяжку отфильтровывают через фильтр в колбу. Полученный фильтрат подвергают исследованию.

## 2. Разделение пигментов по Краусу

Метод основан на различной растворимости пигментов в спирте и бензине. Эти растворители при сливании не смешиваются и образуют две фазы: верхнюю – бензиновую и нижнюю – спиртовую, благодаря чему и разделяются компоненты смеси.

### Порядок выполнения работы

В пробирку наливают 1 мл полученной спиртовой вытяжки, добавляют 1,5 мл бензина и 2-3 капли воды. Пробирку закрывают пробкой и энергично встряхивают 3-4 раза. Через 2-3 мин произойдет разделение слоев. Оба хлорофилла и каротин будут в верхнем бензиновом слое пробирки, а ксантофилл – в нижнем спиртовом.

Следует отметить окраску нижнего спиртового слоя и верхнего бензинового, а также выполнить рисунок и сделать вывод о растворимости пигментов в спирте и бензине.

## 3. Омыление хлорофилла щелочью

Как и все эфиры, хлорофилл может быть омылен щелочью. Продуктами реакции являются спирты (метиловый и фитол) и соль хлорофиллиновой кислоты, которая легко растворяется в воде.

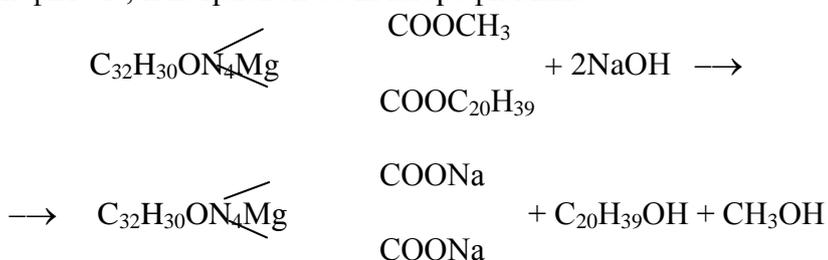
### Порядок выполнения работы

К 1 мл спиртовой вытяжки пигментов добавляют 1 мл 10%-й NaOH и встряхивают. После этого приливают 2 мл бензина, 1 мл воды и закрыв пробирку пробкой, сильно встряхивают.

Через 1-2 мин произойдет разделение слоев: вверху, в бензине, останется каротин, а внизу – ксантофилл и образовавшаяся натриевая соль хлорофиллина.

Соль хлорофиллина имеет зеленую окраску, но отличается от хлорофилла своей нерастворимостью в бензине.

Отметить окраску спиртового и бензинового слоев, зарисовать. Записать реакцию омыления хлорофилла, в результате которой происходит образование спиртов – метилового и фитола, и натриевой соли хлорофиллина.



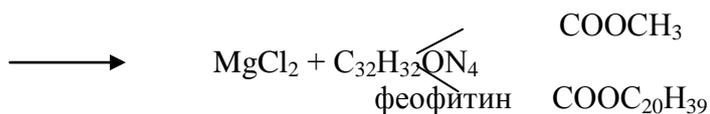
## 4. Действие кислоты на хлорофилл

Атом магния, находящийся в центре порфиринового ядра молекулы хлорофилла, сравнительно слабо удерживается в нём, и при осторожном воздействии сильных кислот легко замещается двумя протонами водорода, что приводит к образованию нового пигмента бурого цвета – феофитина.

### Порядок выполнения работы

В пробирку с 1 мл спиртовой вытяжки пигментов прибавляют 1-2 капли 10%-й соляной кислоты. Раствор становится бурым вследствие образования феофитина – продукта замещения магния в хлорофилле водородом:





Если к полученному раствору, добавить несколько кристаллов сернокислой меди и нагреть пробирку на водяной бане, то бурый цвет раствора изменится на ярко-зеленый в результате образования металлорганического соединения.

Записать реакцию образования металлорганического соединения.

### 5. Флюоресценция хлорофилла

Важным оптическим свойством хлорофилла является флюоресценция, то есть способность увеличивать длину волны отраженного луча. В отраженном свете спиртовая вытяжка хлорофилла имеет темно-вишневый цвет. Это объясняется тем, что часть падающих на него световых лучей подвергается переработке и отражается с измененной длиной волны.

Флюоресценция – признак фотохимической активности хлорофилла. Её можно наблюдать и в живом листе. Для этого лист элодеи, помещают на предметный столик микроскопа и освещают сине-фиолетовыми лучами, под действием которых зеленые пластиды начинают светиться красным светом.

**Материалы и оборудование:** свежие листья, этиловый спирт, бензин, 10%-й раствор NaOH, 10%-й раствор HCl, CuSO<sub>4</sub> в кристаллах, H<sub>2</sub>O; штативы с пробирками, ступки, водяная баня, пипетки на 1мл, спектрометры.

## Лабораторное занятие 6.

### Установление фотосинтетического потенциала и чистой продуктивности фотосинтеза.

Фотосинтетический потенциал (ФП) – размеры листовой поверхности (ЛП), фотосинтезирующей на 1 га за вегетацию культуры. ФП выражается в м<sup>2</sup>·сут./ га.

$$\text{ФП} = \frac{Л_1 + Л_2}{2} T_1 + \frac{Л_2 + Л_3}{2} T_2 + \frac{Л_3 + Л_4}{2} T_3 + \frac{Л_{n-1} + Л_n}{2} T_{n-1},$$

где Л<sub>1</sub>, Л<sub>2</sub>, Л<sub>3</sub>, Л<sub>n</sub> – площадь листовой поверхности в момент учета, м<sup>2</sup>; Т<sub>1</sub>, Т<sub>2</sub>, Т<sub>3</sub>, Т<sub>n-1</sub> – интервалы между сроками учета листовой поверхности, дни;  $\frac{Л_1 + Л_2}{2}$  – средняя площадь листьев для промежутка времени; n — число определений.

Чистая продуктивность фотосинтеза (Ф<sub>ч.пр</sub>) – количество граммов сухого вещества, созданного квадратным метром листовой поверхности за сутки (г/м<sup>2</sup>·сут.).

Ф<sub>ч.пр</sub> можно рассчитать по величинам ФП и конечного урожая:

Ф<sub>ч.пр</sub> = У<sub>биол</sub>/ФП, где У<sub>биол</sub> – урожай сухой массы; ФП – фотосинтетический потенциал.

Следует различать:

1) У<sub>биол</sub> – биологический урожай, общий урожай сухой массы;

$$У_{\text{биол}} = У_{\text{хоз}} \cdot 100 / К_{\text{хоз}}$$

2) У<sub>хоз</sub> – хозяйственный урожай, урожай хозяйственно ценной части сухой массы, например зерна, ц/га;

$$У_{\text{хоз}} = У_{\text{биол}} \cdot К_{\text{хоз}} / 100$$

3) К<sub>хоз</sub> – хозяйственный коэффициент, процентное отношение ценной части урожая к общей сухой массе, например выход зерна от общей сухой массы.

$$К_{\text{хоз}} = У_{\text{хоз}} \cdot 100 / У_{\text{биол}}$$

**Цель работы** – рассчитать ФП,  $\Phi_{ч.пр.}$ ,  $У_{биол.}$  ЛП у разных сортов пшеницы и проса.

1. Определить ФП,  $\Phi_{ч.пр.}$  и  $У_{биол.}$  у яровой пшеницы Саратовская 36 на разных агрофонах при следующих величинах ЛП (тыс. м<sup>2</sup>/га):

Фон	10/V	26/V	1/VI	17/VI	26/VI	10/VI	$У_{хоз.}$ , ц/га	$K_{хоз.}$ , %	$У_{биол.}$ , ц/га	ФП, м <sup>2</sup> ·сут./ га	$\Phi_{ч.пр.}$ , г/м <sup>2</sup> ·сут.
Орошение + + NPK	7,5	10,5	13,9	18,6	24,1	10,1	34,4	40			
Орошение	7,2	9,7	12,2	18,0	24,4	9,8	25,5	42			
Без полива	7,1	9,8	12,1	13,6	15,7	6,1	14,4	45			

2. Определить ФП,  $\Phi_{ч.пр.}$ ,  $У_{биол.}$  у разных сортов яровой пшеницы по следующим показателям ЛП (тыс. м<sup>2</sup>/га):

Сорт	15/V	5/VI	20/VI	30/VI	4/VI	14/VI	$У_{хоз.}$ , ц/га	$K_{хоз.}$ , %	$У_{биол.}$ , ц/га	ФП, м <sup>2</sup> ·сут./га	$\Phi_{ч.пр.}$ , г/м <sup>2</sup> ·сут.
Саратовская 33	1,6	5,7	8,5	7,5	4,5	2,4	12,2	43,2			
Саратовская 29	1,4	5,4	7,9	7,8	4,7	1,9	11,6	40,5			
Саратовская 38	1,6	5,6	7,8	6,5	4,2	1,8	10,7	41,2			
Мелянопус 26	1,4	6,3	9,3	8,5	4,9	2,4	9,1	35,8			
Харьковская 46	1,7	4,3	7,5	8,4	5,4	3,7	14,4	50,7			

3. Определить чистую продуктивность фотосинтеза у разных сортов пшеницы и проса по следующим показателям:

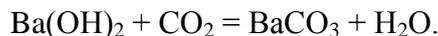
Сорт	Урожай сухой массы главного побега, г	ФП, м <sup>2</sup> /побег	$\Phi_{ч.пр.}$ , г/м <sup>2</sup> ·сут.
<b>Яровая пшеница</b>			
Полтавка	2,64	0,222	
Альбидум 43	3,03	0,240	
Лютесценс 758	3,41	0,288	
Саратовская 24	3,35	0,280	
Саратовская 38	3,37	0,283	
Альбидум 1616	3,28	0,247	
Сорт	Урожай сухой массы главного побега, г	ФП, м <sup>2</sup> /побег	$\Phi_{ч.пр.}$ , г/м <sup>2</sup> ·сут.
<b>Просо</b>			
Саратовское 853	6,81	0,909	
Скороспелое 56	6,58	0,762	
Степное 17	7,60	0,856	
Волжское 3	7,82	0,919	

### Лабораторное занятие 7-8.

#### Определение интенсивности дыхания по количеству выделенной углекислоты

Методы определения интенсивности дыхания основываются на количественном учете поглощенного кислорода и выделенного углекислого газа. В данной работе

интенсивность дыхания определяется по количеству углекислоты, выделенной объектом в закрытый сосуд. В качестве поглотителя  $\text{CO}_2$  используется раствор  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ . Выделяемая в процессе дыхания углекислота реагирует со щелочью, в результате чего концентрация раствора уменьшается:



**Цель работы** – определить интенсивность дыхания по количеству углекислоты, выделяемой объектом в закрытый сосуд.

### Порядок выполнения работы

Взвешивают 2-3 г проросших семян пшеницы, ячменя, гороха и других растений, помещают в марлевый мешочек и прикрепляют его к пробке при помощи крючка (рис. 6).

В колбу наливают 40 мл 0,1 н. раствора  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , помещают в нее мешочек с проросшими семенами и плотно закрывают пробкой. Мешочек не должен касаться раствора.

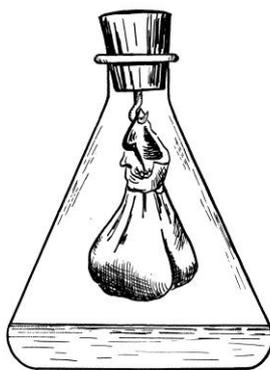


Рис. 6. Колба для определения интенсивности дыхания

Колбу ставят в темноту на 1ч. Её следует периодически осторожно покачивать, чтобы разрушить пленку  $\text{BaCO}_3$ , препятствующую полноте поглощения  $\text{CO}_2$ , не допуская попадания раствора в мешочек.

Определяют начальную концентрацию  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , для чего в колбочку объемом 50 мл наливают мерной пипеткой 10 мл барита, прибавляют 1-2 капли фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором щавелевой кислоты из бюретки до слабо-розового цвета, исчезающего от одной капли кислоты. Титруют в двух повторностях и берут среднее. Расхождение титрования не должно превышать 0,1- 0,2 мл.

После окончания опыта  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  осторожно взбалтывают, чтобы поглотить углекислый газ со стенок колбы, мешочек быстро вынимают, и колбу плотно закрывают пробкой. Когда углекислый барий осядет, пипеткой берут 10 мл прозрачного раствора и титруют щавелевой кислотой так же, как и исходный  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ .

Интенсивность дыхания вычисляют по формуле, имея в виду, что 1 мл щавелевой кислоты соответствует 1 мг  $\text{CO}_2$ :

$$X = (a - b) \cdot 4 / P_t,$$

где X – интенсивность дыхания, мг  $\text{CO}_2$  / г · ч;

a – количество щавелевой кислоты, пошедшей на титрование контрольного раствора  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , мл;

b – количество щавелевой кислоты, пошедшей на титрование опытного раствора  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , мл;

4 – коэффициент пересчета полученной разности (a – b), так как для титрования брали четвертую часть от бывшего в опыте раствора;

P – масса пробы, г;

t – продолжительность опыта, ч.

На основании полученных данных сделать вывод об интенсивности дыхания опытных объектов. Результаты анализов записать по следующей форме:

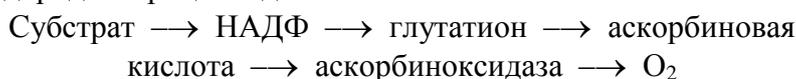
Объект	Масса пробы, г	Количество $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , мл	Время		Продолжительность опыта, ч	Пошло щавелевой кислоты, мл		Интенсивность дыхания, мг $\text{CO}_2$ /г·ч
			начало	конец		контроль	опыт	

**Материалы и оборудование:** проросшие семена различных растений, 0,1 н. раствора  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , 0,1 н.раствор щавелевой кислоты, 0,5%-й раствор фенолфталеина; весы, конические колбы на 250 мл с пробками, марлевые мешочки, колбы объёмом 50 мл, пипетки на 10 мл.

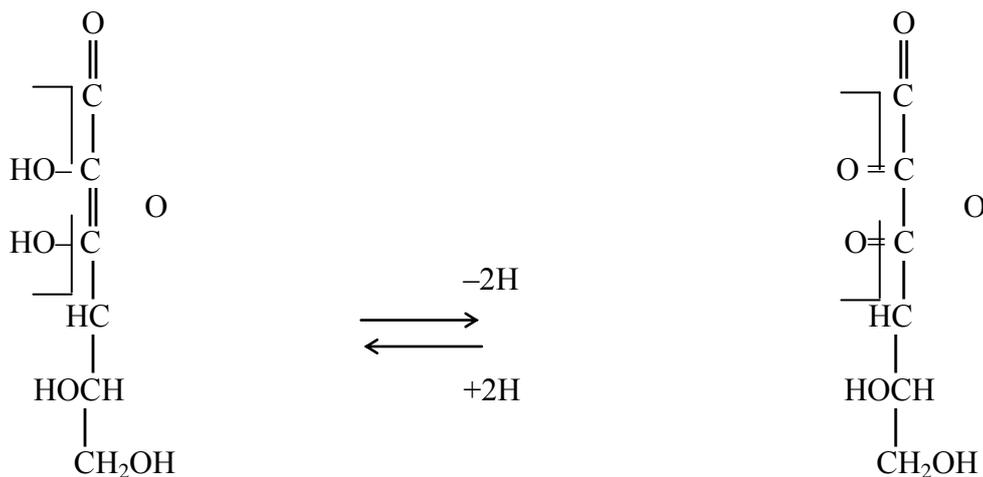
### Лабораторное занятие 9-10.

#### Определение количества аскорбиновой кислоты (витамина С)

Аскорбиновая кислота (витамин С) – близкое к сахарам соединение с сильными восстанавливающими свойствами. Считается, что аскорбиновая кислота является одним из переносчиков водорода в процессе дыхания:



При отщеплении от аскорбиновой кислоты двух водородных атомов она превращается в дегидроформу. Этим объясняется ее активное участие в окислительно-восстановительных реакциях.



L-Аскорбиновая кислота

L-Дегидроаскорбиновая кислота

Аскорбиновая кислота в растениях образуется из углеводов. Прорастание семян сопровождается интенсивным накоплением ( в темноте и на свету) аскорбиновой кислоты.

В этиолированных проростках, только что выходящих из почвы, аскорбиновой кислоты больше, чем в зеленых. Количество витамина С в листьях растения достигает максимума в фазе цветения, а затем резко снижается. В период опадения листьев этот витамин в них не содержится.

В листьях, стеблях, плодах и корнях растений, выращенных в северных районах, витамина С значительно больше, чем в растениях, возделываемых на юге. Растения на легких почвах содержат больше аскорбиновой кислоты по сравнению с растениями тех же сортов, выращенными на тяжелых почвах.

Фосфорно-калийные удобрения повышают количество витамина в растениях, а азотные удобрения, наоборот, понижают.

В плодах и овощах содержится разное количество витамина С, мг % на 100г:

Картофель	10-20	Яблоки	10-30
Капуста белокочанная	20-60	Смородина черная	100-400
Морковь	5-10	Лимон	40-60
Томаты	20-40	Шиповник	1000-4000
Лук репчатый	5-10	Облепиха	200-400
Лук зелёный	20-60	Хвоя ели и сосны	150-250

**Цель работы** – определить содержание витамина С в плодах, выращенных на юге и в средней полосе.

#### Порядок выполнения работы

Навеску растительного материала в 2 г растирают в фарфоровой ступке с 10 мл трихлоруксусной кислоты до гомогенной массы. Растертую массу через воронку переносят в мерную колбу на 50 мл, тщательно обмывают ступку и пестик и доливают до метки трихлоруксусной кислотой. Мерную колбу закрывают пробкой и в течение 5 мин встряхивают. После этого содержимое колбы фильтруют в сухую колбу.

Для определения содержания аскорбиновой кислоты берут мерной пипеткой 10 мл фильтрата и помещают в стаканчик. Фильтрат в стаканчике титруют из микропипетки 2,6-дихлорфенолиндофенолом до слабо-розового окрашивания, сохраняющегося в течение 30 с. Титрование проводят в трехкратной повторности. Расчет производят по формуле:

$$X = 100aTV / CB,$$

где а – количество 2,6-дихлорфенолиндофенола, пошедшего на титрование, мл;

T – титр 2,6-дихлорфенолиндофенола (0,112);

V – объем фильтрата (50 мл);

C – навеска, г;

B – объем фильтрата, взятого для титрования (10 мл).

Содержание витамина выражается в миллиграмм-процентах на 100 г исследуемого материала.

Сделать вывод о влиянии климатических условий на накопление аскорбиновой кислоты.

**Материалы и оборудование:** плоды и овощи, 1 %-я трихлоруксусная кислота, 0,001 н. раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола; ступки с пестиками, мерные колбы на 50 мл, пипетки на 10 мл, микропипетки на 2 мл.

**Лабораторное занятие 11.**  
**Диагностика нуждаемости растений в азоте, фосфоре и калии**  
**(листовая диагностика по Магницкому К.П.)**

Методом химического анализа сока растений, разработанный К.П. Магницким является наиболее простым и доступным. Он позволяет контролировать условия питания растений во время их роста и ориентировочно устанавливать необходимость подкормки теми или иными удобрениями. Пользуясь полевой лабораторией Магницкого, можно быстро и довольно точно определить содержание азота, фосфора и калия в растении с помощью цветных реакций возникающих в результате действия соответствующего реактива на клеточный сок. Интенсивность окрасок сравнивают с соответствующими шкалами каждого исследуемого элемента. Оценка даётся в баллах.

**Цель работы** – дать оценку нуждаемости молодых растений пшеницы, кукурузы и подсолнечника в макроэлементах.

**Порядок выполнения работы**

*Определение нитратов.* На предметное стекло кладут с промежутками в 1-2 см поперечные срезы листовых пластинок растений. Затем их осторожно продавливают пестиком и на каждый срез наносят по одной капле 1%-го раствора дифиниламина; следят за появлением синей окраски. Интенсивность этой окраски сравнивают с табл. и цветной шкалой.

Результаты записать в баллах шкалы и установить степень нуждаемости растений в азотных удобрениях.

Таблица

**Шкала потребности растений в азотных удобрениях**

Б алл	Визуальные признаки окраски среза	Содержание нитратов
1	Бледно-голубоватая, очень быстро наступает обугливание	низкое
2	Синяя, постепенно исчезающая	среднее
3	Тёмно-синяя или тёмно-фиолетовая, быстро наступающая, устойчивая	высокое

*Определение фосфатов.* На предметное стекло, под которое подложена белая бумага, с промежутками 2 см, кладут поперечные срезы листовой пластинки растения. С помощью пестика выдавливают сок из срезов, наносят каплю молибденовокислого аммония, а срезы помещают в стороне от пятен.

На пятна сока и отдельно на оставшуюся ткань срезов наносят последовательно по одной капле раствора бензидина и уксуснокислого натрия. При наличии фосфатов в растении на стекле появляется синее окрашивание капли сока и ткани растения. Интенсивность окраски сравнивают с показателями табл. и цветной шкалой для определения фосфатов.

Результаты записать в баллах шкалы и установить степень нуждаемости растений в фосфорных удобрениях.

Таблица

**Шкала потребности растений в фосфорных удобрениях.**

Б алл	Визуальные признаки окраски среза	Содержание фосфатов
1	Серо-голубой, сосудистые пучки тёмные	низкое
2	Светло-синяя, сосудистые пучки синие	среднее
3	Тёмно-синяя, сосудистые пучки иссиня-черные	высокое

*Определение калия.* На предметное стекло, под которое подложена белая бумага, с промежутками 2 см кладут срезы листовой пластинки растения. Затем их продавливают

пестиком и отодвигают в сторону от пятен выдавленного сока. На пятна и на срезы наносят одну каплю 5 %-го раствора кобальтинитрита натрия и дают возможность образоваться осадку  $K_2Na[Co(NO_2)_6]$ . Через 1 мин. добавляют одну- две капли соляной кислоты для растворения избытка реактива, содержимое перемешивают стеклянной палочкой для ускорения реакции. Через 3-5 мин. сравнивают интенсивность окраски осадка с цветной шкалой для определения калия по таблице.

Результаты записать в баллах шкалы и установить степень нуждаемости растений в калии.

Таблица

**Шкала потребности растений в калии**

Б алл	Визуальные признаки окраски среза	Содержание нитратов
1	Светло-розовая	низкое
2	Желтая	среднее
3	Желто-оранжевая	высокое

**Материалы и оборудование:** листья растений, 1 %-й раствор дифиниламина, молибденовокислого аммония, бензидина, уксуснокислого натрия, 5 %-й раствора кобальтинитрита натрия, концентрированная соляная кислота; предметные стекла, пестики, стеклянные палочки, лезвия.

## Практическое занятие 12.

### Превращение веществ при прорастании семян.

Семена содержат большое количество запасных питательных веществ. При прорастании семян сложные запасные вещества при участии ферментов превращаются в более простые. По химическому составу зрелые семена сельскохозяйственных растений можно разделить на три группы:

- 1) семена, богатые крахмалом;
- 2) семена, богатые белком;
- 3) семена, богатые жирами.

**Цель работы** – установить, каким превращениям подвергаются крахмал и жиры при прорастании семян.

### Порядок выполнения работы

Растереть в ступках 300 – 500 мг непроросших и проросших семян – пшеницы и подсолнечника. Семена подсолнечника перед растиранием следует очистить от кожуры. Растёртую массу поместить в пробирки, снабженные этикетками, залить небольшим количеством воды (5 мл), и нагреть в кипящей водяной бане. Слить вытяжки в чистые пробирки (также с этикетками), прилить к вытяжкам равный объем Фелинговой жидкости и довести до кипения. По количеству образовавшейся закиси меди визуально оценить содержание редуцирующих сахаров. К оставшемуся в пробирках материалу (мезге) прилить раствор Люголя и по интенсивности посинения дать оценку содержания крахмала.

Сделать тонкие срезы не проросших и проросших семян подсолнечника, поместить их на предметные стекла в капли раствора Судана III и накрыть покровными стеклами. Через 5 мин промыть срезы водой, рассмотреть под микроскопом и дать оценку содержания жира по количеству и размерам капель, окрашенных в красный или оранжевый цвет.

Результаты анализа записать по следующей схеме, оценить содержание соответствующих веществ в баллах и сделать вывод.

Объект исследования	Крахмал	Жир	Редуцирующие сахара
Семена пшеницы не проросшие			
Семена пшеницы проросшие			
Семена подсолнечника не проросшие			
Семена подсолнечника проросшие			

**Материалы и оборудование.** Семена пшеницы, подсолнечника.

Микроскопы, микротом, ступки с пестиками, предметные и покровные стекла, препаровальные иглы, раствор Люголя, раствор Судана III.

### Лабораторное занятие 13-14.

#### Изучение действия амилазы на крахмал.

Крахмал – главный полисахарид растений, играющий роль запасного вещества. Его молекула состоит из двух компонентов – амилозы и амилопектина, различающихся по химическим и физическим свойствам. Крахмал запасается в клетках растений в виде крахмальных зерен. Их можно наблюдать в хлоропластах клеток, в клубнях или семенах. Крахмальные зерна имеют слоистую структуру и у разных видов растений различаются как по форме, так и по размерам.

У прорастающих семян наблюдается «разъедание» крахмальных зерен. Этот процесс гидролитического распада крахмала происходит при участии фермента амилазы. В семени, находящемся в состоянии покоя, количество амилазы незначительно. Оно возрастает по мере прорастания семени. Центром образования амилазы, например, в зернах пшеницы или кукурузы, является зародыш, а также алейроновый слой, окружающий эндосперм.

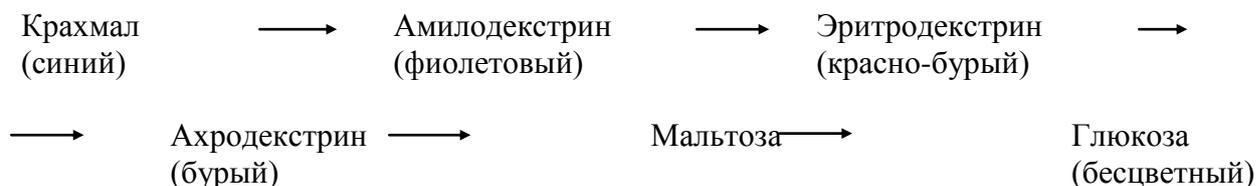
Амилаза постепенно разрушает молекулу крахмала и дает возможность с помощью йодной реакцией обнаружить промежуточные продукты гидролиза – декстрины. Декстрины – это полисахариды, остатки крахмальных цепей, состоящих из гексоз, растворимые в воде, но не обладающие сладким вкусом. В присутствии йода они дают гамму цветов – от фиолетового до бесцветного.

**Цель работы** – гидролизовать крахмал с помощью амилазы, обнаружить промежуточные и конечные продукты гидролиза.

#### Порядок выполнения работы

В штатив ставят 10-15 пробирок и заполняют их водой, подкрашенной ЖК до соломенно-желтого цвета. В колбу наливают 20 мл 2%-го крахмального клейстера и 1 мл амилазы, содержимое тщательно перемешивают, 1 мл смеси вносят в первую (контрольную) пробирку. По содержимому пробирки можно определить, в какой цвет окрашивается крахмальный клейстер йодом. Затем колбу помещают в стакан с водой, имеющей температуру 50 °С, и спустя 2-3 мин берут 1 мл смеси и вносят в следующую пробирку.

Гамма цветных переходов через ряд промежуточных продуктов при гидролизе крахмала осуществляется по схеме:



Важно регулировать температуру воды и продолжительность времени между пробами. Например, если гидролиз протекает медленно, то следует подлить в стакан горячей воды, доведя ее до 55 °С или добавить фермент. При быстром гидролизе воду нужно охладить, а пробы брать чаще.

После прекращения специфической йодной реакции необходимо удостовериться в наличии восстанавливающих сахаров. Для этого в чистую пробирку наливают 2 мл реактива Фелинга, 1 мл смеси из колбы и помещают их в водяную баню. При нагревании окисное соединение меди восстанавливается за счет окисления гексоз до закиси меди, выпадающей в виде красно-бурого осадка.

Зарисовать гамму цветных переходов карандашами.

**Материалы и оборудование:** 2%-й крахмальный клейстер, ЖК, фермент амилаза, реактив Фелинга; водяная баня, штативы с пробирками, стаканы фарфоровые, колбы на 50 мл, термометр, пипетки на 1-2 мл, мерные цилиндры на 25-50 мл.

## **Практическое занятие 15.**

### **Физиология и биохимия формирования качества урожая сельскохозяйственных культур.**

**Цель работы:** изучить, как происходит созревание семян, плодов и других продуктивных частей растений.

#### **1. Особенности созревания зерновок у злаков**

В агрономической практике созревание зерновок принято разделять на пять фаз: начало молочной спелости, молочную спелость (семя легко раздавливается, а содержимое его напоминает молоко), начало восковой спелости, восковую спелость (содержимое семени густое) и полную спелость.

Ведущие процессы созревания зерновок – развитие зародыша и отложения запасных веществ. К началу молочной спелости вес эндосперма в 70 раз больше, чем зародыша. Увеличение веса зародыша заканчивается в восковую спелость. В фазе полной спелости вес зародыша уже не увеличивается.

Содержание крахмала быстро возрастает до молочной спелости. Одновременно снижается содержание растворимых углеводов.

Содержание белка и общего азота нарастает вплоть до полной спелости зерна. На начальных фазах развития зерновки преобладают небелковые формы азота (аммиачный, аминный, амидный), на поздних – белковые.

Перед созреванием эндосперм пшеницы содержит много аспарагина, аргинина и гистидина. При высыхании зерна свободные аминокислоты почти полностью исчезают, используясь на синтез запасных белков. По мере роста зерновки в ней накапливаются также жир и минеральные вещества.

При созревании зерновок в эндосперме и зародыше ослабляется дыхание, снижается содержание аскорбиновой кислоты и глутатиона, уменьшается активность дегидрогеназ, пероксидазы, цитохромоксидазы, но возрастает – полифенолоксидазы. Кроме того, снижается количество свободного ауксина и увеличивается – связанного.

На формирование зерновок воздействуют различные внутренние и внешние факторы, главным образом, величина ассимиляционной поверхности, интенсивность фотосинтеза, дыхания, передвижение пластических веществ, содержание воды в почве, относительная влажность и температура воздуха, поступление азота и других элементов.

У пшеницы, ржи, ячменя листья желтеют и прекращают фотосинтез еще до окончания созревания семян. Поэтому на поздних фазах созревания налив зерна осуществляется за счет притока веществ из корней, соломины, флагового листа, листовых влагалищ и чешуек колоса. При этом колосовые элементы отдают больший процент пластических веществ, чем листья.

Поскольку темпы и продолжительность налива варьируют широко в зависимости от погодных условий, агротехники и сорта, необходимо иметь единый и объективный критерий, по которому можно было бы судить об окончании налива. Установлено, что прирост сухих веществ зерновок заканчивается при снижении их влажности до 38 – 40%, что соответствует началу восковой спелости.

## **2. Созревание масличных семян**

Из всех масличных растений наиболее полно изучено созревания семян у подсолнечника. В формировании подсолнечника выделяют две фазы. На первой (14 – 16 дней) увеличивается объем семян, образуются покровы и ядро. Эта фаза получила название формообразующей. Вторая фаза продолжается до конца созревания. Ее основное содержание – накопление сухого вещества и отложение запасных веществ. Вторую фазу называют запасной.

Как показывают исследования, местом синтеза жиров служат ядра семян. Накопление масла начинается с первых дней формирования ядра. Наиболее интенсивно масло образуется за одну – две недели до конца созревания.

Материалом для синтеза масла являются притекающие из листьев сахара. Сначала синтезируются жирные кислоты. По мере усиления синтеза жирных кислот в них образуется больше двойных связей. Одновременно синтезируется глицерин. Завершающий этап синтеза жира – присоединение жирных кислот к глицерину.

В плодах масличных растений отлагаются также белки, крахмал и другие вещества. Накопление сухого вещества и жира усиливается по мере снижения содержания воды.

Следует отметить, что в начале созревания ассимиляты потребляются преимущественно краевыми семянками. Они быстрее растут и интенсивнее накапливают сухое вещество. Внутренние семянки начинают отлагать жир намного позднее. При неблагоприятных условиях они остаются незаполненными.

## **3. Созревание сочных плодов**

К сочным плодам относятся плоды фруктовых деревьев и ягодных кустарников, томаты, дыни, арбузы и др. Ю.В. Ракитин выделяет два основных этапа в формировании мясистых плодов.

Первый этап формирования сочных плодов можно назвать периодом роста, так как в семени и околоплоднике в это время преобладают различного рода формообразовательные процессы. Увеличивается количество и объем клеток, образуются ткани и органы плода, семени, утолщаются клеточные оболочки, отлагаются запасные белки, жир, крахмал.

Второй этап формирования сочных плодов можно назвать периодом созревания, поскольку ход обменных процессов резко изменяется. В это время в семенах все еще преобладают синтетические процессы, но их интенсивность снижается, и семена постепенно переходят в состояние покоя. В околоплоднике начинают преобладать процессы распада высокомолекулярных соединений на более простые. Крахмал превращается в сахара, нерастворимый пропектин переходит в растворимый пектин, в результате чего околоплодник размягчается. Значительно уменьшается содержание органических кислот. В связи с этим величина сахарокислотного коэффициента при созревании плодов увеличивается. Образуются окрашивающие пигменты, эфирные масла, воскообразные вещества кожицы плодов.

К концу созревания в плодоножке образуется отделительный слой, после чего прекращается поступление в плоды пластических и минеральных веществ из материнского растения.

## **4. Созревание корнеплодов и клубнеплодов**

Продуктивными частями у некоторых растений являются корни, клубни, луковицы. К растениям – корнеплодам относятся свекла, морковь, редька и др., к клубнеплодам – картофель.

Общая физиологическая черта этих растений – отложение запасных веществ в подземных органах. Оно зависит от развития надземных частей и интенсивности фотосинтетического процесса. Поэтому, как правило, чем больше листовая поверхность, чем продолжительнее ее работа, тем выше урожай корней и клубней.

У всех корнеплодных и клубнеплодных растений вегетационный период можно разбить на два различных по физиологической природе этапа. На первом этапе образуется ассимиляционная поверхность и растет деятельная часть корневой системы. Растения как бы подготавливаются к созданию продуктивных частей и отложению в них запасных веществ. На втором этапе вместе с образованием новых листьев и корней начинается разрастание продуктивных частей и одновременно отложение запасных веществ, интенсифицирующиеся с замедлением роста корней или клубней.

Сахар в корнях сахарной свеклы накапливается до конца созревания. Максимум накопления крахмала у картофеля совпадает со снижением интенсивности роста клубней.

У сахарной свеклы наибольшее количество сахаров содержат паренхиматические обкладки сосудов, у картофеля содержание крахмала понижается от камбиального слоя к периферии и центральной части клубня. В основании клубня крахмала на 2 – 3% больше, чем в верхушке.

В первый период развития корнеплодных и клубнеплодных растений применяемые мероприятия должны обеспечить интенсивный рост надземных частей и корней, во второй период – интенсивный рост продуктивных органов и отложение в них запасных веществ.

## **5. Изменение качества урожая в зависимости от почвенно-климатических условий**

На качество урожая воздействуют самые разнообразные факторы. Однако ведущими являются влагообеспеченность, характер почв, температурный и световой режимы.

Изучение содержания белка у пшениц из разных географических пунктов позволило сделать вывод, что с возрастанием континентальности климата, содержание белка в зерне пшеницы повышается а, следовательно, возрастает пищевая ценность зерна. Колебания в содержании белка у зернобобовых растений в зависимости от климата имеют те же закономерности, что и у злаков.

Закономерности накопления жира в семенах масличных культур совершенно иные. Количество жира возрастает с увеличением осадков. При орошении содержание жира повышается на 2 – 4,7 %.

Климатический фактор влияет и на накопление сахара. В среднем можно принять, что на юге сахаристость корнеплодов сахарной свеклы выше на 3 %, с каждым градусом широты сахаристость изменяется на 0,1 %, а вес корня – на 5 – 7 %.

Зональный фактор – не единственная причина изменения качества урожая. Не меньшее значение имеют складывающаяся погодная обстановка, величина урожая, сортовые особенности культивируемых растений.

Наибольший процент белка бывает в засушливые годы. Белковистость зерна снижается, как правило, с возрастанием урожая яровых пшениц, хотя валовой выход белка с единицы площади в общем увеличился. Содержание белка в зерне яровых пшениц в большей степени определяется погодной обстановкой и величиной урожая и в малой – сортовыми особенностями. Основная причина снижения белка – создание большого количества сухого вещества на одном и том же азотном фоне, недостаточное количество азотной пищи для формирования зерна с высокой белковистостью. Определенное влияние оказывают и биохимические факторы. Оказалось, что при повышенной продуктивности накопление крахмала опережает отложение запасных белков, так как синтез углеводов требует меньших энергетических затрат, чем синтез азотистых веществ. При увеличении доли участия листьев в наливе зерна, естественно, возрастает и приток углеводов в формирующиеся зерновки.

На содержание белка в зерне пшеницы по-разному воздействуют различные формы азотных удобрений. Аммиачный азот в этом отношении эффективнее нитратного. Благоприятствуют накоплению азота подкормки мочевиной.

При внесении фосфорных удобрений содержание белка чаще всего не изменяется. Однако обогащение фосфатами почв, богатых азотом, положительно сказывается на качестве зерна.

Калийные удобрения не увеличивают содержание белка в пшенице. Они эффективны только при сочетании с азотными и фосфорными удобрениями.

В целом удобрения улучшают все показатели качества зерна: содержание белка, клейковины, стекловидность, натуру и силу муки.

В повышении качества зерна пшениц большое место занимает селекционный процесс. Одним из надежных путей создания высокопродуктивных сортов пшеницы с повышенным содержанием белка и хорошими технологическими свойствами является гибридизация высокобелковых форм из мировых растительных ресурсов с высокоурожайными местными сортами.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

### Основная

1. **Рогожин, В.В.** Практикум по физиологии и биохимии растений: Учеб. пособие / В.В. Рогожин, Т.В. Рогожина. - СПб.: ГИОРД, 2013. - 352 с.: ISBN 978-5-98879-151-5; режим доступа: <http://znanium.com/bookread2.php?book=414998>

2. **Нельсон, Д.** Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 1. Основы биохимии, строение и катализ: Учебное пособие / Д. Нельсон, М. Кокс - М.: Лаборатория знаний, 2015. - 751 с.: ISBN 978-5-9963-2316-6  
режим доступа: <http://znanium.com/bookread2.php?book=974655>

### Дополнительная

1. **Ильина, Н. А.** Физиология и биохимия растений: Учеб. пособие / Н. А. Ильина, И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2013. – 335 с. – ISBN 978-5-86045-613-6

2. **Новиков, Н. Н.** Биохимия растений / Н. Н. Новиков. - М.: КолосС, 2012. – 679 с. - ISBN 978-5-9532-0719-5.

3. **Плакунов, В. К.** Основы динамической биохимии [Электронный ресурс]: учебник / В. К. Плакунов, Ю. А. Николаев. – М.: Логос, 2010. – 216 с. - (Новая университетская библиотека). - ISBN 978-5-98704-493-3.  
режим доступа: <http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=469367>

4. Практикум по дисциплине Физиология растений для студентов очной и заочной формы обучения направлений 110900.62 Технология производства и переработки с.-х. продукции, 110100.62 Агрохимия и агропочвоведение, 250100.62 Лесное дело / сост. О.П. Устименко. – Уссурийск: Приморская ГСХА, 2013. — 135 с.  
режим доступа: <https://e.lanbook.com/book/70643>

5. **Рогожин, В.В.** Биохимия растений: Учебник / Рогожин В.В. - СПб: ГИОРД, 2012. - 432 с. ISBN 978-5-98879-118-8  
режим доступа: <http://znanium.com/bookread2.php?book=328427>

6. **Хелдт, Г.-В.** Биохимия растений [Электронный ресурс] / Г.-В. Хелдт; пер. с англ. - 2-е изд. (эл.). - М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. - 471 с.: ил. - (Лучший зарубежный учебник). - ISBN 978-5-9963-1302-0.  
режим доступа: <http://znanium.com/bookread2.php?book=477773>

## СОДЕРЖАНИЕ

Лабораторное занятие 1. Избирательная проницаемость протоплазмы.	2
Лабораторное занятие 2. Влияние внешних факторов на проницаемость протоплазмы.	3
Лабораторное занятие 3. Определение осмотического давления клеточного сока методом плазмолиза.	3
Лабораторное занятие 4. Знакомство с движением устьиц.	5
Лабораторное занятие 5. Пигменты зеленого листа и физико-химические свойства хлорофилла.	5
Лабораторное занятие 6. Установление фотосинтетического потенциала и чистой продуктивности фотосинтеза.	7
Лабораторное занятие 7-8. Определение интенсивности дыхания по количеству выделенной углекислоты.	8
Лабораторное занятие 9-10. Определение количества аскорбиновой кислоты (Витамина С).	10
Лабораторное занятие 11. Диагностика нуждаемости растений в азоте, фосфоре и калии (Листовая диагностика по Магницкому).	12
Практическое занятие 12. Превращение веществ при прорастании семян.	13
Лабораторное занятие 13-14. Изучение действия амилазы на крахмал.	14
Практическое занятие 15. Физиология и биохимия формирования качества урожая сельскохозяйственных культур.	15
Библиографический список.....	19
Содержание.....	20