

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации  
Департамент научно-технологической политики и образования

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Донской государственный аграрный университет»

# ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

Учебное пособие

Персиановский  
2019

УДК 581.1  
ББК 28.57  
Ф 50

**Рецензенты:** доктор с.х. наук, профессор кафедры земледелия и ТХРП  
ФГБОУ ВО Донской ГАУ И.В. Фетюхин  
кандидат с.-х. наук, доцент кафедры земледелия и ТХРП  
ФГБОУ ВО Донской ГАУ Е.М. Фалынсков

Ф 50 Физиология и биохимия растений : учебное пособие / сост.: С.А. Гужвин, В.Д. Кумачева, Р.А. Каменев ; Донской ГАУ. - Персиановский : Донской ГАУ, 2019. – 172 с.

Учебное пособие предназначено для студентов бакалавриата направлений: агрономия, садоводство, агрохимия и агропочвоведение, технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции. В пособии изложены современные методы исследований различных функций растений, уделено внимание способам, позволяющим оценивать физиологическое состояние растений в полевых условиях.

УДК 581.1  
ББК 28.57

Учебное пособие рассмотрено и одобрено методической комиссией агрономического факультета (протокол № 6 от 20.02.2019 г.)  
Рекомендовано к изданию методическим советом Донского ГАУ (протокол № 2 от 28.03.2019 г.)

© ФГБОУ ВО Донской ГАУ, 2019  
© Гужвин С.А., Кумачева В.Д., Каменев Р.А. составление, 2019

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
I. ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ.....	7
Работа 1. Явление плазмолиза и деплазмолиза.....	13
Работа 2. Влияние ионов калия и кальция на вязкость цитоплазмы.....	15
Работа 3. Влияние изменения температуры на проницаемость клеточных мембран.....	16
Работа 4. Получение искусственной «клеточки Траубе».....	18
Работа 5. Накопление красителей в вакуолях живой клетки.....	20
Работа 6. Определение осмотического давления клеточного сока плазмолитическим методом.....	22
Работа 7. Определение концентрации клеточного сока и потенциального осмотического давления рефрактометрическим методом.....	26
Работа 8. Определение жизнеспособности семян по окрашиванию цитоплазмы (по Нелюбову).....	27
II. ОСНОВНЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ.....	33
Работа 9. Получение раствора растительного белка и реакции его осаждения.....	44
Работа 10. Цветные реакции на белки.....	46
Работа 11. Обнаружение запасных сахаров в растительном материале.....	47
Работа 12. Получение растворов моносахаридов, дисахаридов и полисахаридов.....	50
Работа 13. Гидролиз крахмала под действием амилазы (диастазы).....	54
Работа 14. Растительные жиры и их основные свойства.....	57
Работа 15. Определение химических констант масла.....	59
Работа 16. Влияние температуры и реакции среды на активность инвертазы.....	63
Работа 17. Определение общей кислотности в растении.....	65
Работа 18. Обнаружение дубильных веществ в растениях.....	67
Работа 19. Обнаружение алкалоидов в растениях.....	68
III. ВОДНЫЙ РЕЖИМ РАСТЕНИЙ.....	73
Работа 20. Определение водного потенциала листьев методом Шардакова.....	78
Работа 21. Определение интенсивности транспирации весовым методом..	81
Работа 22. Сравнение транспирации верхней и нижней сторон листа хлорокобальтовым методом (по Шталю).....	84
Работа 23. Определение состояния устьиц методом инфильтрации (по Молишу).....	85
Работа 24. Зависимость набухания семян от характера запасных питательных веществ.....	86
Работа 25. Влияние концентрации раствора на прорастание семян.....	88
IV. ФОТОСИНТЕЗ.....	93
Работа 26. Получение спиртовой вытяжки пигментов зеленого листа и исследование химических свойств пигментов.....	96

Работа 27. Оптические свойства пигментов листа.....	99
Работа 28. Количественное определение пигментов.....	100
Работа 29. Влияние внешних условий на интенсивность фотосинтеза водного растения.....	103
Работа 30. Разделение пигментов листа хроматографическим методом (по Цвету).....	106
Работа 31. Фотосенсибилизирующее действие хлорофилла на реакцию переноса водорода (по Гуревичу).....	108
Работа 32. Образование первичного крахмала на свету.....	110
V. ДЫХАНИЕ.....	115
Работа 33. Определение интенсивности дыхания семян в закрытом сосуде.....	118
Работа 34. Определение дыхательного коэффициента прорастающих семян.....	120
Работа 35. Количественное определение активности каталазы по Баху и Опарину.....	122
Работа 36. Обнаружение каталазы.....	124
Работа 37. Обнаружение пероксидазы в соке клубней картофеля.....	125
Работа 38. Обнаружение дегидрогеназ в растениях.....	127
Работа 39. Образование амилазы при прорастании семян.....	128
VI. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ.....	132
Работа 40. Микрохимический анализ золы.....	135
Работа 41. Физиологически кислые и щелочные соли.....	138
Работа 42. Рост корней пшеницы в растворе чистой соли и смеси солей (антагонизм ионов).....	139
Работа 43. Химический анализ сока растений.....	141
Работа 44. Обнаружение нитратов в растениях.....	143
VII. РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ.....	149
Работа 45. Наблюдение периодичности роста побега.....	152
Работа 46. Выявление апикального доминирования у растений.....	153
VIII. ПРИСПОСОБЛЕНИЕ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ.....	155
Работа 47. Определение жаростойкости растений (по Мацкову).....	156
Работа 48. Защитное действие сахаров на цитоплазму при замораживании.....	158
Работа 49. Повреждающее действие аммиака на цветки и листья растений.....	159
Работа 50. Определение аскорбиновой кислоты.....	160
Литература.....	165
Приложение А. Рефрактометрические показатели, концентрация и осмотическое давление сахарозы.....	168
Приложение Б. Шкалы для определения содержания питательных веществ в растениях.....	171

## ВВЕДЕНИЕ

*Физиология растений* (от греч. *physis* – природа и *logos* – понятие, учение) – наука, которая изучает процессы жизнедеятельности и функции растительного организма на всем протяжении его развития при всех возможных условиях внешней среды; наука о функциональной активности растительных организмов.

*Биохимия растений* изучает химический состав и процессы превращения веществ у растений. Она имеет большое значение для растениеводства и ряда отраслей пищевой промышленности.

*Объектом* изучения физиологии и биохимии растений служит огромный и разнообразный мир растений.

В задачи физиологии растений входят раскрытие сущности процессов, протекающих в растении, установление их взаимной связи, изменения под влиянием среды механизмов их регуляции. *Главная задача* физиологии растений – познание закономерностей жизнедеятельности растительного организма в онтогенезе в различных условиях среды с целью научиться управлять этими процессами и получать максимум продукции с единицы площади.

*Главная задача* биохимии – идентификация основных закономерностей биохимических процессов, выяснение взаимосвязи между структурой и функциями биомолекул, участвующих в реакциях клеточного метаболизма.

Цель дисциплины – формирование представлений, знаний и навыков по физиологическим и биохимическим основам жизнедеятельности растений. Чтобы усвоить основы современной физиологии и биохимии растений, необходимо экспериментальное ознакомление с главнейшими функциями растительного организма и методами исследования, применяемыми в научной и производственной деятельности агронома. Поэтому наряду с теоретическим материалом студент должен самостоятельно выполнить цикл практических занятий.

По мере изучения пособия должно создаваться все более отчетливое и глубокое представление о растении как о живом организме, с его разнообразными процессами и реакциями на воздействие среды, о возможности управлять физиологическими процессами при помощи факторов среды с целью осуществления более интенсивного роста или получения более высокой продуктивности растений.

Лабораторные занятия позволяют закрепить и, в известной мере, развить и расширить знания по теоретическому курсу. Кроме того, выполняя лабораторные работы, студент овладевает методиками исследований, приобретает навыки самостоятельной работы, в частности, методикой проведения научно-исследовательских работ.

Рекомендуемые работы большей частью 2-часовые занятия. Последовательность работ пособия соответствует программному изучению лекционного курса.

Пособие предусматривает большую возможность проявления самостоятельности и инициативы студентами, которые согласуют с преподавателем выбор объектов и частные варианты опытов.

Лабораторные работы выполняются по следующему плану:

- домашняя подготовка к заданной работе с использованием лекционного материала, учебников и настоящего пособия;
- предварительная беседа преподавателя со студентами, в результате которой преподаватель выясняет подготовленность студента к выполнению задания;
- выполнение лабораторной работы;
- оформление результатов работы в виде расчетов, таблиц, рисунков и выводов;
- сдача выполненной и оформленной работы преподавателю.

По окончании каждой темы проводится проверка преподавателем сделанных студентами записей.

# I. ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Все организмы на нашей планете состоят из клеток. *Клетка* – это основа развития, строения и жизнедеятельности организмов животных и растений – одноклеточных и многоклеточных. В одноклеточных организмах одна клетка выполняет все функции живого существа и по форме часто близка к шару или эллипсоиду.

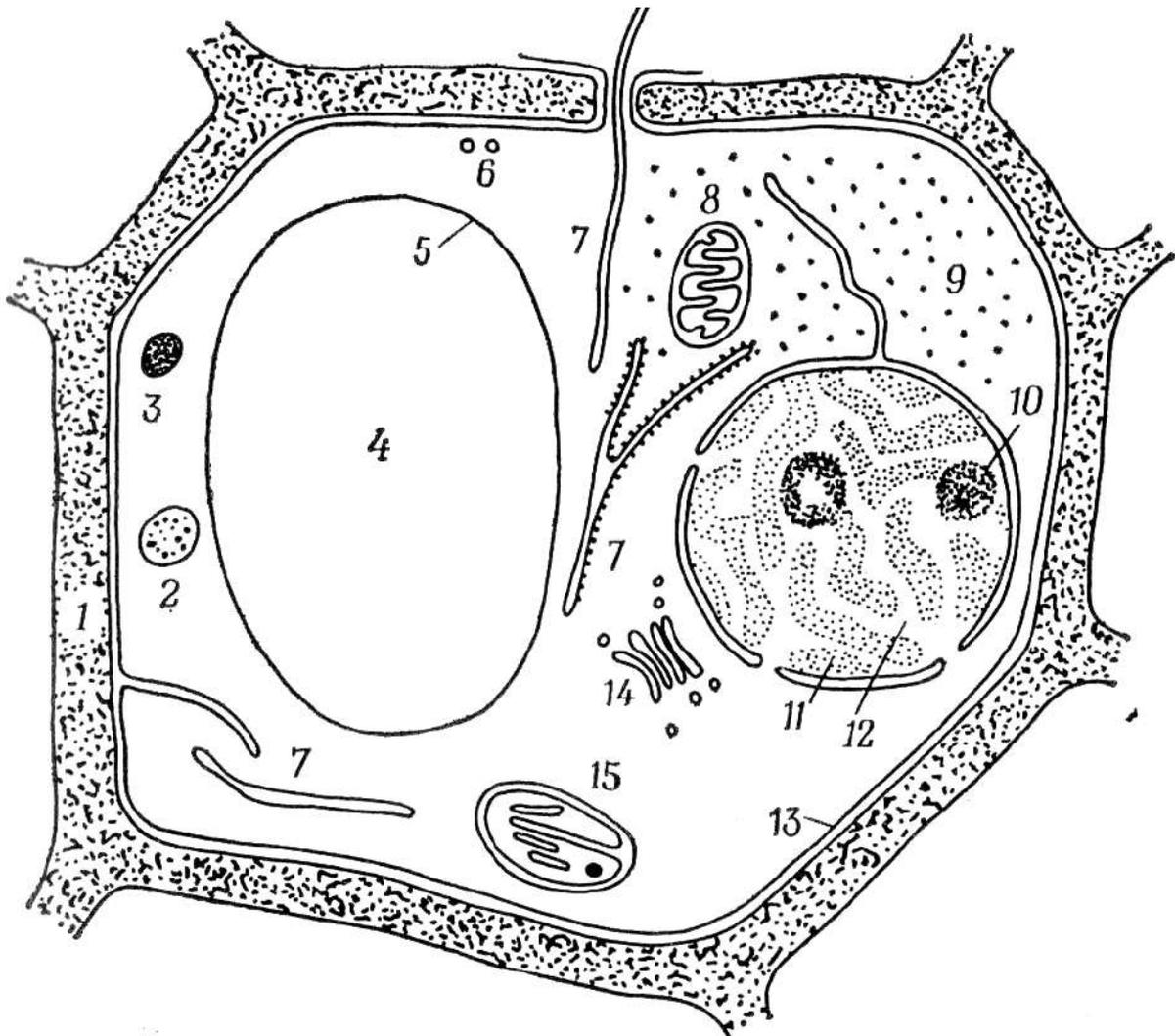
Термин «клетка» (от греч. «cytos» - клетка или лат. «cellula» - полость) впервые применил Роберт Гук в 1665 г. при описании строения пробки. Размеры различных клеток варьируют чрезвычайно сильно – диаметр ряда бактерий не достигает и одного микрометра, длина некоторых вытянутых клеток измеряется миллиметрами. При этом каждая клетка обладает такими свойствами живого, как способность к самовоспроизведению и движению, раздражимостью, ростом, изменчивостью и адаптацией к внешней среде. Клетки имеют сложную специфическую организацию. На её основе они разделены на два типа: *прокариоты* и *эукариоты*. Из названия типов следует, что в основу классификации клеток положена организация ядра.

Об уровне жизнедеятельности клетки можно судить по вязкости клетки, от влияния внешних условий, температуры, влажности, минерального питания и т.д.

Растительная клетка или клетка эукаритического организма содержит ядро с одним или несколькими ядрышками, митохондрии, аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум, микротела, рибосомы, компоненты цитоскелета – микротрубочки (рис. 1). В отличие от других эукаритических организмов для растительных клеток характерны:

1. наличие пластид, среди которых важнейшую роль играют хлоропласты;

2. прочная полисахаридная клеточная стенка, окружающая клетку;
3. центральная вакуоль в зрелых клетках, играющая важную роль в поддержании тургора.



1 – клеточная стенка; 2 – лизосома<sup>1</sup>; 3 – капля жира; 4 – вакуоль; 5 – тонопласт; 6 – микротрубочки; 7 – эндоплазматическая сеть (в центре шероховатая, с рибосомами, а сверху и снизу – гладкая, без рибосом); 8 – митохондрия; 9 – рибосомы; 10 – ядрышко; 11 – хроматин; 12 – ядро; 13 – плазмалемма; 14 – диктиосома; 15 – пластида.

Рис. 1. - Схема строения клетки мезофилла листа

<sup>1</sup> Лизосомы, диктиосомы, жировые капли, митохондрии и пластиды имеются в клетке в большом количестве, однако для наглядности на схеме они представлены только один раз.

Клеточные стенки у растения играют роль скелета, т.е. обеспечивают должную жесткость и способствуют сохранению формы организма.

Типичным для всех клеток является наличие на поверхности *протопласта* тонкой невидимой в световой микроскоп структуры, так называемой *плазматической мембраны*, или *плазмалеммы*. Эта мембрана обладает свойством полупроницаемости, или избирательной проницаемости, т.е. выполняет барьерную функцию, не пропуская или почти не пропуская молекулы крупнее, чем молекулы воды. Однако такой барьер существует только в живых клетках. Когда клетка теряет свойство полупроницаемости, все растворимые вещества быстро выходят наружу и клетка гибнет.

Органеллы цитоплазмы (*ядро, пластиды, митохондрии, аппарат Гольджи, эндоплазматическая сеть*) имеют свои поверхностные мембраны. Вакуоль ограничена внутренней мембраной цитоплазмы - *тонопластом*. Таким образом, мембраны осуществляют в клетке *компартаментацию* - разделение её на отдельные участки (компарменты), в которых поддерживается постоянство среды (гомеостаз). Мембраны составляют также внутреннюю структуру таких органелл, как хлоропласты и митохондрии, увеличивая поверхность, на которой протекают важнейшие биологические и биофизические процессы.

Одним из важнейших компонентов клетки является *цитоплазма*. Она представляет собой специфический липонуклеопротеидный комплекс, имеющий полимерные (полиэлектролитные) свойства. Одно из основных свойств цитоплазмы живой клетки – способность к движению. Важнейшее свойство цитоплазмы – избирательная проницаемость (полупроницаемость). Иными словами, она проницаема для воды и в меньшей степени - для растворенных веществ. В явлении избирательной проницаемости исключительная роль принадлежит двум пограничным слоям цитоплазмы – *плазмалемме* и *тонопласту*.

Функции растительной клетки в целом определяются согласованной деятельностью органелл.

*Ядро* является важнейшей органеллой эукариотических клеток. Оно выполняет роль хранения и воспроизведения наследственной информации. Оно служит также центром управления обменом веществ клетки, контролирующим деятельность всех других органелл. С ядерной мембраной связана *эндоплазматическая сеть* (ЭПС). Отграниченные мембранами каналы ЭПС пронизывают всю цитоплазму и проникают в соседние клетки через плазмодесмы. Функция ЭПС - транспорт веществ и сигналов. На поверхности «шероховатой» ЭПС располагаются *рибосомы*, состоящие из белка и РНК, в рибосомах происходит синтез белка.

Неотъемлемый компонент фотосинтезирующих зеленых клеток являются пластиды. Важнейшие из пластид – *хлоропласты* имеют зеленую окраску, обусловленную содержанием зеленого пигмента – *хлорофилла*. Функция *хлоропластов* заключается в осуществлении преобразования световой энергии в химическую (фотосинтез). Второй тип пластид – *хромoplastы*. Они образуются из хлоропластов или лейкопластов. Их наличием объясняется окраска плодов. Еще одна группа пластид – *лейкопласты*. Они бесцветные, играют в клетке роль хранилищ для запасных питательных веществ.

Другой важнейший органоид клетки - *митохондрии*. Они обладают следующими функциями: осуществляют окислительные реакции, являющиеся источником электронов; переносят электроны по цепи переносчиков, синтезирующих АТФ; катализируют синтетические реакции, идущие с использованием энергии АТФ; регулируют биохимические процессы в цитоплазме.

Хлоропласты и митохондрии являются «силовыми станциями» клетки, от которых зависит жизнедеятельность клетки и растения в целом.

Система канальцев и цистерн, ограниченных одинарной мембраной, составляет *аппарат Гольджи*, ответственный за внутриклеточную секрецию веществ, в частности, необходимых для построения клеточной оболочки. В округлых тельцах - *лизосомах* изолируются гидролитические ферменты, *сферосомы*, ответственные за синтез липидов.

Основные компоненты растительной клетки эукариотов и их главные функции представлены в таблице 1.

**Таблица 1 - Основные физиологические функции структурных компонентов растительной клетки**

Структурные компоненты клетки		Основные физиологические функции	
клеточная оболочка		обеспечение прочности, защита, опорная функция	
Протопласт	вакуоль	осморегуляция, запасание веществ, переваривание	
	Цитоплазма	ядро	хранение и передача генетической информации
		ядрышко	синтез и перераспределение РНК
		митохондрии	дыхание
		хлоропласты	фотосинтез
		аппарат Гольджи	накапливание углеводов, секреция, образование клеточной оболочки
		эндоплазматическая сеть	транспорт веществ, образование метаболических центров
		лизосомы	внутриклеточное пищеварение
		сферосомы	накапливание и хранение жира
		микротельца, пероксисомы, глиоксисомы	фотодыхание, глиоксилатный цикл
		микротрубочки	ориентация микрофибрилл целлюлозы
		рибосомы	синтез белка
		плазмолемма	контроль за транспортом веществ, защита, рецепция
основная плазма	гликолиз		

*Рибосомы* – рибонуклеопротеидные частицы сферической формы, диаметром 15-35 нм, лишенные мембранной структуры. Они состоят приблизительно из одинакового количества структурного белка и высокополимерной РНК. Рибосомы имеются в клетках всех организмов. Комплексы из пяти и более рибосом называются *полирибосомами* или *полисомами*. Основная функция рибосом – «сборка» белковых молекул из аминокислот.

Взрослая растительная клетка имеет большую *вакуоль*, содержащую водный раствор органических и минеральных веществ. Концентрация этих веществ в клеточном соке и степень их диссоциации определяют потенциальное осмотическое давление клетки - её максимальную способность поглощать воду. Центральная вакуоль оказывает давление на цитоплазму и клеточные стенки. Это давление вносит свой вклад в поддержание формы растительного организма и придание ему надлежащей жесткости. Вакуоль ограничена мембраной - *тонопластом*. Сейчас общепринято, что мембранный принцип организации характерен не только для плазмалеммы, но и для всех основных клеточных органелл.

Таким образом, именно функциональная деятельность организмов, органов, тканей, клеток находится в центре внимания физиологов, и чтобы понять физиологию растений, прежде всего, необходимо исследовать свойства, отличающие живые клетки растений от неживых.

## РАБОТА 1

### Явление плазмолиза и деплазмолиза

Растительная клетка представляет собой осмотическую систему, в которой протопласт играет роль полупроницаемой оболочки, а осмотически деятельным раствором является клеточный сок. Если внешний раствор будет более концентрированным, чем раствор внутри клетки, то вода будет выходить из клетки.

По концентрации различают *изотонические*, *гипертонические* и *гипотонические* растворы. При погружении растительных клеток в *гипертонический* раствор (осмотическое давление которого выше осмотического давления клеточного сока), за счет экзосмоса объем вакуолей и цитоплазмы уменьшается, и наблюдается явление *плазмолиза* – отставание цитоплазмы от клеточной стенки. В зависимости от степени вязкости протопласта наблюдаются различные формы плазмолиза. Сначала будет происходить отставание цитоплазмы от оболочки клетки по уголкам – *уголковый плазмолиз*, затем еще сильнее с появлением вогнутых участков – *вогнутый плазмолиз*, в итоге произойдет полное отставание цитоплазмы от оболочки и примет округлую форму - *выпуклый плазмолиз*.

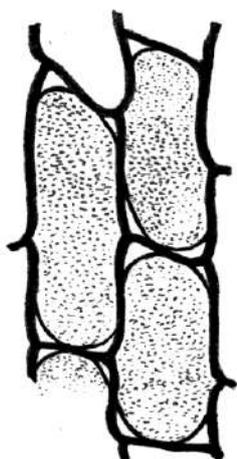
Если клетки, находящиеся в состоянии плазмолиза переместить в чистую воду или *гипотонический раствор* (концентрация которого меньше концентрации клеточного сока), в клетках за счет эндосмоса будет восстанавливаться тургор. Процесс перехода клеток из состояния плазмолиза в состояние тургора называется *деплазмолизом*.

В *изотоническом* растворе (концентрация которого равна концентрации клеточного сока) явление плазмолиза не наблюдается.

**Цель работы.** Изучить осмотические явления в клетках: тургор, плазмолиз, деплазмолиз.

**Объект исследования:** лук цветной (*Allium cepa*).

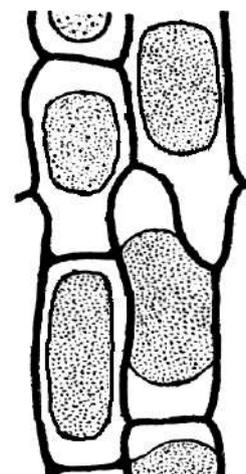
**Ход работы.** Срез с выпуклой стороны, окрашенной антоцианом луковицы поместить в каплю воды и рассмотреть под микроскопом. Отметить состояние клетки. Затем с одной стороны покровного стекла поместить каплю гипертонического раствора (хлористый натрий), а с другой стороны осушить воду фильтровальной бумагой. Причем повторить не менее 2-3 раз до полной замены воды хлористым натрием. Одновременно с этим наблюдать, что происходит в клетках (уголковый, вогнутый, выпуклый плазмолиз) (рис. 2). После наблюдения полного плазмолиза заменить хлористый натрий водой и проследить за изменениями в клетке. Все наблюдения зарисовать и дать объяснения.



*Уголковая*



*Вогнутая*



*Выпуклая*

**Рисунок. 2. Формы плазмолиза**

**Оформление работы.** Каждую работу пособия описывают в следующем порядке: 1. Цель работы; 2. Объект исследования; 3. Ход определения; 4. Результаты, полученные при выполнении работы в виде таблицы; 5. Выводы.

**Материалы и оборудование:** лук, окрашенный антоцианом, 1М раствор NaCl, пинцет, скальпель, препаровальная игла, предметные и покровные стекла, микроскоп, стеклянная палочка, фильтровальная бумага, кипяченая вода.

## РАБОТА 2

### Влияние ионов калия и кальция на вязкость цитоплазмы

Ионы минеральных солей способны влиять на свойство коллоидов цитоплазмы, изменяя её вязкость, причём ионы одно- и двухвалентных металлов проявляют противоположное действие.

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

*Временем плазмолиза* называется период, который проходит с момента погружения ткани растения в раствор плазмолитика до наступления выпуклого плазмолиза. Этот показатель характеризует вязкость цитоплазмы: чем больше время плазмолиза, тем выше вязкость цитоплазмы.

**Цель работы:** сравнить структурную вязкость цитоплазмы клеток в зависимости от ионов металлов.

**Объект исследования:** лук цветной (*Allium cepa*).

**Ход работы.** Нанести на предметные стёкла по капле растворов  $KNO_3$  и  $Ca(NO_3)_2$  (сделать на стёклах соответствующие надписи). Поместить в растворы по кусочку эпидермиса с окрашенным клеточным соком и закрыть покровными стеклами. Во избежание испарения смазать края покровных стёкол вазелином (или время от времени вводить под покровные стёкла новые капли растворов). Записать время погружения срезов в растворы и сразу приступить к наблюдению под микроскопом, отмечая время наступления фаз плазмолиза (при этом не следует принимать во внимание периферическую зону, так как там свойства цитоплазмы могут быть изменены вследствие раневого раздражения).

Результаты наблюдений записывают в таблицу 2.

**Таблица 2 – Изменение формы плазмолиза  
в зависимости от катионов солей**

Вариант	Плазмолитик	Время погружения ткани в раствор	Время наступления плазмолиза	Форма плазмолиза
1	KNO <sub>3</sub>			
2	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>			

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

**Материалы и оборудование:** лук окрашенный антоцианом, пинцет, микроскоп, предметные и покровные стекла, препаровальные иглы, лезвие, фильтровальная бумага, растворы солей: 1 М KNO<sub>3</sub> и 0,7 М Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

### РАБОТА 3

#### **Влияние изменения температуры на проницаемость клеточных мембран**

Одним из факторов внешней среды, определяющих степень проницаемости клеточных мембран, является температура. Изменение температуры приводит к изменению состояния липидов в клеточных мембранах. Меняется ферментативная активность многих мембранных белков, проницаемость и транспортная активность мембран резко меняются при переходе липидов из «жидкого» состояния в «твердое». Повреждения растений низкими положительными температурами также характеризуются изменением физического состояния мембран, которое ведет к повышению их проницаемости.

Проницаемость мембран используется как показатель устойчивости растений в экстремальных условиях. Определить влияние ка-

ких-либо условий или веществ на проницаемость клеточных мембран можно также с помощью различных методов, в частности *деплазмолиза* или измерения выхода метаболитов из клетки.

**Цель работы:** определить действие температуры на проницаемость плазмалеммы и тонопласта в клетках лука по скорости проникновения мочевины в вакуоль.

**Объект исследования:** клетки эпидермиса выпуклой стороны чешуи окрашенного лука (*Allium cepa*).

**Ход работы.** Делают тонкие срезы эпидермиса выпуклой стороны чешуи окрашенного лука. Помещают 3-4 среза в бюкс с 10 %-ной мочевиной и отмечают время. Бюкс закрывают крышкой, чтобы избежать испарения раствора, и оставляют при комнатной температуре. Определяют время *плазмолиза* и *деплазмолиза* для всех срезов. С этой целью через каждые 5-10 мин вынимают срез из бюкса и помещают его в капле этого же раствора мочевины на предметное стекло, закрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом (малое увеличение). Когда 50 % клеток на срезе будет находиться в стадии выпуклого плазмолиза, отмечают время наступления *плазмолиза* для данного среза. После просмотра срез помещают обратно в бюкс и затем для этих же срезов определяют время *деплазмолиза*, т.е. исчезновение картины плазмолиза после проникновения мочевины в вакуоль. Время наступления деплазмолиза отмечают, когда он будет наблюдаться у 50 % клеток. Подобные опыты проделывают, помещая срезы в бюкс, находящийся в холодильнике, где температура + 3 °С, и в две пробирки одна из которых находится в водяной бане с температурой + 35 °С, другая - + 45 °С. Определяют время плазмолиза и деплазмолиза при этих температурах.

**Оформление работы.** Результаты записывают в таблицу 3 и делают вывод.

**Таблица 3** – Действие температуры на проницаемость клеток лука

Температура	Номер среза	Время, мин	
		плазмолиз	деплазмолиз
0...+ 3 <sup>0</sup>	1		
	2		
	3		
	среднее		
22 <sup>0</sup>	1		
	2		
	3		
	среднее		
35 <sup>0</sup>	1		
	2		
	3		
	среднее		
45 <sup>0</sup>	1		
	2		
	3		
	среднее		

**Материалы и оборудование:** цветной лук, микроскоп, покровные и предметные стекла, бритва, 10 %-ный раствор мочевины, бюксы, кусочки фильтровальной бумаги, препаровальные иглы, термометр, дистиллированная вода.

## РАБОТА 4

### Получение искусственной «клеточки Траубе»

Поверхностная клеточная мембрана, *плазмалемма*, непосредственно связана с окружающей клеткой внешней средой, и этим определяется ее особое положение в клетке, ее структура и функции. В плазмалемме заключены специальные механизмы узнавания и реакции на воздействие самых разнообразных факторов. Поступление любого вещества в клетку контролируется плазмалеммой, поскольку она, как и любая клеточная мембрана, обладает избирательной про-

ницаемостью. *Плазмалемма* выполняет защитную функцию в клетке, участвует в узнавании клетками друг друга, агрегации, адгезии, обмену информацией между клетками, восприятию различных химических и физических воздействий.

Мембраны живых клеток возникают, развиваются и разрушаются на протяжении всей жизни клетки. Состав, структура и свойства мембран определяются их природой и зависят от условий окружающей среды.

**Цель работы:** изучить механизм образования искусственной клетки.

**Объект исследования:** кристаллики желтой кровяной соли и раствор медного купороса.

**Ход работы.** В пробирку с 0,5 н. раствором  $\text{CuSO}_4$  опускают небольшой кристаллик желтой кровяной соли  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  и наблюдают за постепенным ростом образующейся «клетки Траубе».

Это явление объясняется следующим образом. Как только начинается растворение упавшего на дно пробирки кристаллика желтой кровяной соли, так сразу на границе растворов образуется осадочная полупроницаемая мембрана железосинеродистой меди, так как последняя представляет собой нерастворимое соединение. Реакция идет по уравнению:



Образовавшаяся мембрана проницаема для воды, но непроницаема для солей. Внутри полости, ограниченной мембраной, продолжается растворение желтой соли, снаружи же концентрация медного купороса остается неизменной. Вскоре концентрация  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  начинает превосходить таковую  $\text{CuSO}_4$ . разность осмотических давлений по обе стороны мембраны вызывает ток воды со стороны раствора медного купороса в «клетку Траубе». Последняя начинает рас-

тягиваться. Ее оболочка лопается. Но как только оба раствора придут в непосредственное соприкосновение, тотчас же образуется новая мембрана. В совокупности эти процессы вызывают «рост» «клетки Траубе», который будет совершаться до тех пор, пока не закончится растворение, и концентрация солей по обе стороны мембраны не сравняются.

Разумеется, между «клеткой Траубе» и ее «ростом» и ростом живых растительных клеток ничего общего нет (рост живых клеток совершается через обмен веществ), интересным же в этом опыте является получение мембраны железосинеродистой меди, которая является примером полупроницаемых мембран, и которые играют важную роль при проникновении веществ в клетку.

**Оформление работы.** Зарисовать осадочную мембрану железосинеродистой меди и обозначить ее компоненты.

**Материалы и оборудование:** 0,5 н. раствор  $\text{CuSO}_4$ ; кристаллики желтой кровяной соли; пробирки; пинцет.

## РАБОТА 5

### Накопление красителей в вакуолях живой клетки

Краска нейтрального красного способна проникать в живые клетки и накапливаться в них в больших количествах. При непродолжительном пребывании клеток в растворе нейтрального красного цитоплазма не отмирает, в чем можно убедиться, вызвав плазмолиз окрашенных клеток.

Нейтральный красный – двухцветный индикатор: в кислой среде он имеет малиновую окраску, в щелочной – желтую.

Живая цитоплазма не удерживает в себе витальные красители, которые через нее свободно проходят в вакуоль и окрашивают кле-

точный сок.

С гибелью или повреждением клетки в результате изменений нативной (прижизненной) структуры белков красители задерживаются в самой цитоплазме, которая при этом приобретает соответствующую окраску. Повышение сродства к красителям у цитоплазмы и ядра – признак повреждения клетки.

**Цель работы:** установить различие свойств живых и мертвых клеток цитоплазмы.

**Объект исследования:** эпидермис обыкновенного лука (*Allium cepa*) и раствор нейтрального красного (1:1000).

**Ход работы.** Кусочек эпидермиса чешуи неокрашенного лука выдерживают в слабом растворе нейтрального красного в течение 20 мин. Затем помещают окрашенный кусочек на предметное стекло в каплю воды, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом (при малом увеличении).

Живые клетки вакуоли будут окрашены нейтральным красным в малиновый цвет, а цитоплазма и ядро не окрашены (рис. 3). Мертвые клетки цитоплазмы и ядра будут окрашены нейтральным красным.

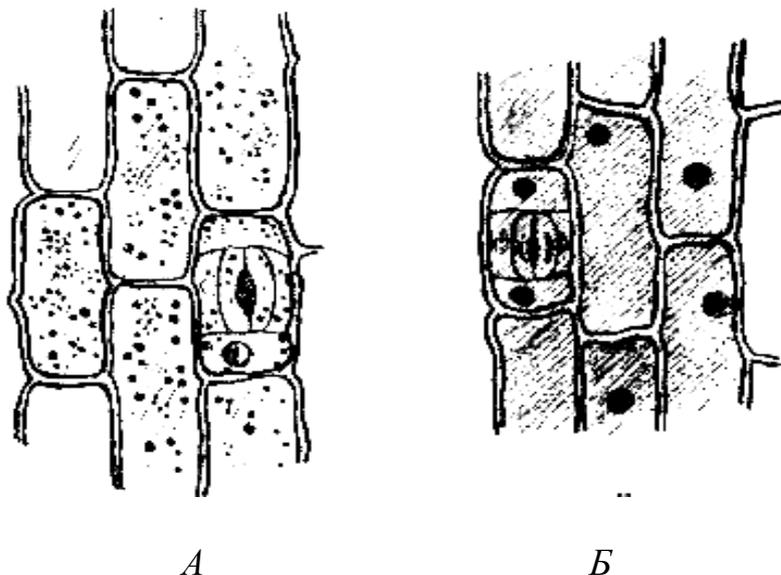
Не снимая препарат со столика микроскопа, фильтровальной бумагой забрать воду из под покровного стекла, и ввести под него 1-2 капли 1 М раствора NaCl. Плазмолиз клеток, накопивших краску в вакуолях, подтверждает то, что эти клетки живые.

Чтобы проследить за изменениями в клетке при ее повреждении и гибели, применяют сильный яд – аммиак.

Заменить под покровным стеклом 1 М NaCl на каплю 10 %-ного аммиака. Окраска эпидермиса становится желтой, так как в присутствии аммиака кислая реакция клеточного сока перейдет в щелочную.

В погибших под действием аммиака клетках цитоплазма и ядро приобретают видимую в микроскоп структуру и окрашиваются в желто-бурый цвет.

**Оформление работы.** Зарисовать клетки лука в воде, накопившие нейтральный краситель в вакуолях; клетки, плазмолизированные в 1 М растворе NaCl; клетки лука с оструктуренными и окрашенными цитоплазмой и ядром, убитые аммиаком; сделать вывод.



**Материалы и оборудование:** луковица обыкновенного лука, 0,02 %-ный раствор нейтрального красителя, 1 М раствор хлористого натрия, 10 %-ный аммиак, скальпель, лезвие, препаровальная игла, микроскоп, предметные и покровные стекла, стеклянная палочка, фильтровальная бумага, цветные карандаши.

*А - окрашенные гранулы*

*Б - диффузионная окраска цитоплазмы*

**Рисунок 3. Окрашивание органелл клетки**

## РАБОТА 6

### Определение осмотического давления клеточного сока плазмолитическим методом

Существуют пористые перегородки, с помощью которых можно отделить коллоиды от кристаллоидов. Их используют для метода, который известен под названием *диализ*. К перегородкам такого типа принадлежат клеточная целлюлозная оболочка и протопласт. Медленная диффузия растворителя и веществ через полупроницаемые перегородки (мембраны) называется *осмосом*.

Концентрацию клеточного сока, представляющего собой раствор различных органических и неорганических веществ, чаще определяют по его осмотическому давлению. Его осмотическое давление зависит от концентрации и степени диссоциации этих веществ. *Осмотическое давление* – это давление, которое способен развивать раствор, всасывая воду через полупроницаемую перепонку (мембрану). Величина осмотического давления раствора прямо пропорциональна его концентрации и абсолютной температуре.

Осмоз и осмотическое давление играют большую роль в биологических явлениях. Постоянный осмос воды внутрь клетки создает в растении повышенное гидростатическое давление, которое обуславливает прочность и упругость тканей. Уравновешенное осмотическое давление клеточного сока составляет 405-2026 кПа.

Осмотическое давление растворов можно обнаружить лишь в том случае, когда они содержатся в сосуде с полупроницаемой перегородкой, причем с другой стороны перегородки обязательно должен быть оастворитель.

Вычисляют осмотическое давление по уравнению Вант-Гоффа:

$$P = RTCi,$$

где  $P$  – осмотическое давление, атм.;

$R$  – универсальная газовая постоянная (0,0821 л атм/град\*моль);

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

$C$  – концентрация раствора в молях;

$i$  - изотонический коэффициент.

Для неэлектролитов, например для сахарозы,  $i=1$ . Для электролитов величина  $i$  зависит от числа ионов, на которое распадается молекула и от степени диссоциации.

Коэффициент Вант-Гоффа вычисляют по формуле:

$$i = 1 + d(n-1);$$

где  $d$  – степень диссоциации;

$n$  – число ионов, на которые диссоциирует молекула.

Значения изотонического коэффициента хлористого натрия даны в табл.4.

**Таблица 4** – Степень диссоциации раствора NaCl разной концентрации

Концентрация	1,0	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,01
Изотонический коэффициент	1,62	1,64	1,66	1,68	1,70	1,73	1,75	1,78	1,83	1,93

Данный метод определения осмотического давления клеточного сока основан на подборе такой концентрации наружного раствора, которая вызывает начальный плазмолиз. Осмотическое давление такого наружного раствора примерно равно осмотическому давлению клеточного сока.

**Цель работы:** установить изотоническую концентрацию раствора и вычислить осмотическое давление клеточного сока по уравнению Вант-Гоффа.

**Объект исследования:** эпидермис цветного лука (*Allium cepa*).

**Ход работы.** Готовят в бюксах, снабженных надписями, по 10 мл раствора хлористого натрия концентраций 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 и 0,1 М (см. табл. 5). Растворы тщательно перемешивают, бюксы закрывают крышками, чтобы предотвратить испарение, и ставят в ряд по убывающей концентрации растворов.

Приготовить при помощи лезвия бритвы 10 срезов с выпуклой стороны окрашенного антоцианом лука и поместить их в кипяченую воду на часовое стекло. При погружении в воду удаляется сок, вытекающий из поврежденных клеток, и достигается одинаковое состояние всех срезов. Через несколько минут извлечь срезы из воды, обсушить фильтровальной бумагой и через каждые 3 минуты по 2 среза

погрузить в каждый бюкс, начиная с самого концентрированного. При этом необходимо следить за тем, чтобы срезы не плавали на поверхности, а были погружены в растворы.

Через 30 мин рассмотреть срезы в микроскоп в капле соответствующего раствора в той же последовательности. Определить степень плазмолиза клеток в каждом растворе и найти изотоническую концентрацию как среднее арифметическое между концентрацией, при которой плазмолиз только начинается, и той, которая не вызывает плазмолиза.

**Оформление работы.** Результаты опыта записать, в таблицу 5. Рассчитать осмотическое давление клеточного сока и сделать вывод.

**Таблица 5 – Изменение осмотического давления в зависимости от концентрации растворов**

Концентрация растворов, М	На 10 мл раствора		Продолжительность пребывания среза в растворе		Степень плазмолиза	Изотоническая концентрация	Осмотическое давление клеточного сока (атм.)
	<i>NaCl</i> , мл	<i>H<sub>2</sub>O</i> , мл	Время погружения	Время наблюдения			
0,5	5	5					
0,4	4	6					
0,3	3	7					
0,2	2	8					
0,1	1	9					

**Материалы и оборудование:** лук окрашенный антоцианом, 1М раствор хлористого натрия, пинцет, микроскоп, бюретки с воронками, тигельки с крышками, предметные и покровные стекла, стеклянная палочка, препаровальная игла, скальпель, лезвие, фильтровальная бумага, термометр, дистиллированная и кипяченая вода, карандаш по стеклу.

## РАБОТА 7

### Определение концентрации клеточного сока и потенциального осмотического давления рефрактометрическим методом

*Рефрактометр* – оптический прибор, при помощи которого определяют показатель преломления луча при прохождении его через призму с нанесенными на нее исследуемым раствором. Показатель преломления зависит от концентрации раствора и температуры.

Существуют несколько типов рефрактометров, устройство которых и правила работы с ними описаны в инструкциях, прилагаемых к каждому прибору. Основная часть рефрактометра – две стеклянные призмы, причем нижняя призма закреплена неподвижно, а верхняя может подниматься и опускаться. Между этими призмами помещают исследуемый раствор. Затем, закрывают призму и приступают к определению концентрации клеточного сока. Сравнивают концентрацию сока у листьев мезофитов, ксерофитов и суккулентов.

Рефрактометрический метод позволяет быстро и точно определить концентрацию клеточного сока и осмотическое давление. Метод основан на учете показателя преломления света клеточным соком.

**Цель работы:** научиться быстро и точно определять концентрацию сока в растительных клетках на рефрактометре.

**Объект исследования:** свежие листья озимой пшеницы (*Triticum aestivum*), одуванчика (*Taraxacum officinale*) и свеклы (*Beta vulgaris*).

**Ход работы.** При помощи ручного пресса получают сок из листьев озимой пшеницы (различные предшественники, дозы удобрений и др.), предварительно завернутых в кусочки марли.

Одну-две капли сока наносят на нижнюю поверхность призмы рефрактометра и прижимают верхней поверхностью призмы. Прибор

направляют на свет и добиваются четкого изображения его шкалы. Деление шкалы, через которое проходит горизонтальная граница между светлым и темными полями соответствует показанию прибора. По специальной таблице (см. приложение А) находят величину концентрации клеточного сока и осмотическое давление. Для каждого варианта делают три определения. После каждого определения удалить с поверхности призмы капли сока сухой фильтровальной бумагой, затем дважды протереть бумагой, смоченной дистиллированной водой, и снова вытереть сухой фильтровальной бумагой.

**Оформление результатов.** Результаты опыта записать в таблицу 6 и сделать вывод о содержании сахарозы в растениях озимой пшеницы перед уходом ее в зиму.

**Таблица 6** – Показатели концентрации и осмотического давления

Вариант	Показатель шкалы рефрактометра	Концентрация сахаров, %	Осмотическое давление, КПа

**Материалы и оборудование:** листья растений, ручной пресс, марля, ножницы, пипетки, рефрактометр, фильтровальная бумага.

## РАБОТА 8

### Определение жизнеспособности семян по окрашиванию цитоплазмы (по Нелюбову)

*Жизнеспособность* - это содержание в семенном материале живых семян, выраженное в процентах. Её определяют если необходимо срочно установить качество семян и для выяснения причин низкой всхожести. Жизнеспособность семян устанавливают методом набу-

хания. Международные правила испытания семян предусматривают окрашивание семян тетразолом, причём этот метод используют только для плодовых, древесных и кустарниковых пород. В России окрашивание семян осуществляют тетразолом, индигокармином или фуксином кислым. Метод определения жизнеспособности семян путём окрашивания их индиго-кармином впервые разработан Д.Н. Нелюбовым (1925). Он основан на том, что живая плазма клеток зародыша непроницаема для раствора индигокармина, кислого фуксина и других анилиновых красок, тогда как мёртвая легко их пропускает и окрашивается. Жизнеспособными семенами считаются те, зародыши которых не окрашиваются.

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

**Цель работы:** научиться быстро и точно устанавливать жизнеспособность семян сельскохозяйственных культур.

**Объект исследования:** семена гороха посевного (*Pisum sativum*), пшеницы (*Triticum durum*) и яблони (*Malus domestica*).

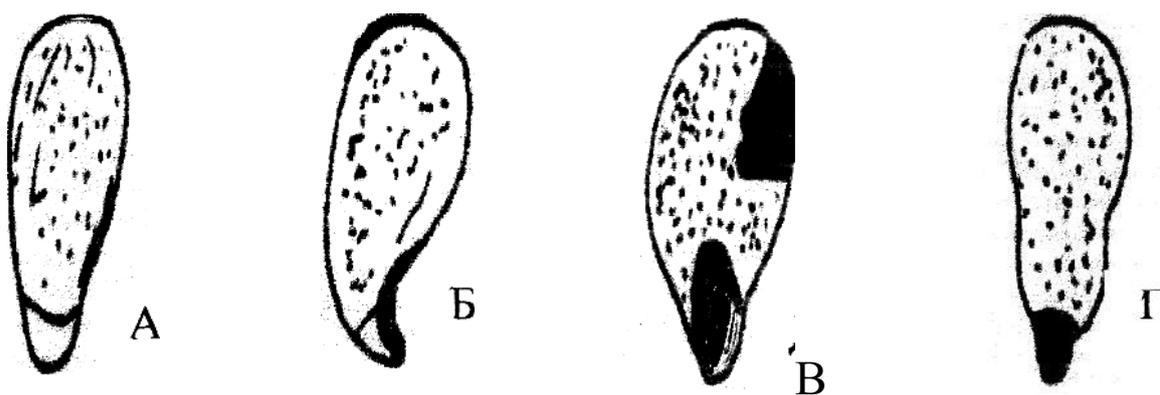
**Ход работы.** Взять 10 набухших и 10 прокипяченных семян гороха. Осторожно, не повреждая семядоли, очистить их препаровальной иглой от семенной оболочки. После этого поместить семена в бюксы, залить 0,2-ным раствором индигокармина и выдержать 1-2 часа. Затем слить краску, а семена отмыть водой от избытка красителя и установить их жизнеспособность.

Семена с неокрашенными или частично окрашенными зародышами и семядолями относят к числу жизнеспособных. Семена с полностью окрашенными зародышами и семядолями относят к нежизнеспособным (рис. 4).

**Оформление работы.** Результаты записать в таблицу 7, зарисовать и сделать выводы.

**Таблица 7 – Анализ жизнеспособности семян**

Объект	Количество взятых семян, шт.	Количество семян, шт.		
		окрашенных полностью	окрашенных частично	неокрашенных



*А, Б – жизнеспособные*

*В, Г - нежизнеспособные*

**Рисунок 4. Зародыши яблони**

**Материалы и оборудование:** семена гороха посевного, бюксы, раствор индигокармина, препаровальные иглы,

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Что такое плазмолиз и каковы его причины?
2. Способны ли плазмолизироваться мертвые клетки?
3. Как происходит плазмолиз?
4. Существует ли связь между проницаемостью цитоплазмы и ее вязкостью?
5. Как объяснить образование выпуклого плазмолиза?
6. Что такое тургор?
7. Какие растворы называют гипертоническими, гипотоническими и изотоническими?
8. Назовите формы плазмолиза?
9. Что такое время плазмолиза?

10. Назовите методы определения полупроницаемости мембран?
11. Перечислите основные физиологические функции структурных компонентов растительной клетки?
12. В чем проявляется структурное сходство между животными и растительными клетками? Чем различаются эти клетки? Какие различия в функции соответствуют этим структурным различиям?
13. Чем различаются прокариоты и эукариоты? В чем можно видеть адаптивную ценность эукариотической организации?
14. Протопласт клетки и каждая находящаяся в нем органелла окружена мембраной. Перечислите общие особенности строения и общие свойства всех мембран. Укажите различия между мембранами разных органелл. Как связаны эти различия с функциями органелл?
15. У хлоропластов и митохондрий помимо наружной мембраны имеется еще и внутренняя мембранная система. В чем заключаются функции этих внутренних мембран?
16. Каковы функции внутренних мембран хлоропластов и митохондрий?
17. Что является основным признаком жизни?
18. Какую долю в среднем составляет в клетке: вода (80, 20, 1 %); белки (80, 20, 1 %); неорганические вещества (80, 20, 1 %)?
19. Опишите различные процессы, от которых зависит рост вновь образовавшейся клетки.
20. Какова вероятная причина дифференциации на различные клеточные типы в растительном организме? Приведите доводы подтверждающие ваши соображения.
21. В чем суть избирательной проницаемости мембран?
22. Из каких молекул состоит биологическая мембрана (белки, липиды, углеводы, вода, АТФ)?
23. Через какие участки мембраны проводится вода (липидный слой, белковые поры), ионы (липидный слой, белковые поры)?
24. Какая органелла связывает клетку в единое целое (наружная клеточная мембрана, комплекс Гольджи, ЭПС)?
25. По каким обстоятельствам клетка является элементарной структурной единицей?
26. Какова роль поверхностной клеточной мембраны-плазмалеммы?
27. Какова роль вакуолярной мембраны - тонопласта?

28. Велика ли проницаемость цитоплазмы для нейтрально красного?
29. Какова реакция (рН) содержимого исследуемых клеток?
30. Как объяснить накопление нейтрального красного в клетках?
31. Останутся ли клетки живыми после накопления в них аммиака?
32. В какой части клетки быстро накапливается витальный краситель?
33. Существует ли связь между проницаемостью цитоплазмы и ее вязкостью?
34. Как объяснить отсутствие обратной диффузии поглощенной краски из клеток в наружный раствор?
35. Способны ли плазмолизироваться мертвые клетки?
36. Пропускает ли живая цитоплазма вещества клеточного сока?
37. Как влияет на проницаемость цитоплазмы температура и ядовитые вещества?
38. Можно ли отнять воду от клетки после достижения ею состояния полного завядания, т.е. полной потери тургора? Объясните.
39. Найти сосущую силу клеток, если известно, что в растворах с осмотическим давлением 0,3 и 0,5 МПа размеры клеток увеличились, а в растворе, осмотическое давление которого 0,7 МПа, объем клеток уменьшился.
40. У каких растений больше осмотическое давление клеточного сока: у растений растущих на солончаках или у растений незасоленных почв; у выросших в тенистом влажном месте или у растущих в степи? Как объяснить эти различия?
41. Клетка с осмотическим давлением клеточного сока 1 МПа погружена в раствор КС1, осмотическое давление которого 2 МПа. Что произойдет с клеткой?
42. Кусочки одной и той же растительной ткани погружены в растворы 1 М сахарозы и 1 М хлорида калия? В каком из этих растворов будет более сильный плазмолиз? Как это объяснить?
43. Растворы с осмотическим давлением 1,0 и 1,2 МПа вызывали плазмолиз клеток исследуемой ткани, а в растворах, осмотическое давление которых 0,6 и 0,8 МПа, плазмолиза не наблюдалось. Чему равно осмотическое давление клеточного сока?
44. Чему равны сосущая сила и тургорное давление погруженной в раствор клетки после установления равновесия между клеткой и раствором, если известно, что осмотическое давление клеточного сока 1,6 МПа, а наружный раствор 1,2 МПа?

45. Как устроен рефрактометр?
46. Перечислить осмотические показатели.
47. Клетка погружена в дистиллированную воду. В каком случае клетка будет сосать воду, а в каком не будет?
48. Клетка погружена в раствор. Осмотическое давление клеточного сока 1 МПа, наружного раствора 0,7 МПа. Куда пойдёт вода?
49. После погружения куска растительной ткани в 10%-ный раствор сахарозы концентрация его осталась без изменений. В какую сторону изменится концентрация 12 %-ного раствора сахарозы, если в него поместить тот же кусок ткани? Объясните.
50. Растворы с осмотическим давлением 1,6 и 1,9 МПа вызвали плазмолиз клеток исследуемой ткани, а в растворах, осмотическое давление которых 0,7 и 0,9 МПа, плазмолиза не наблюдалось. Чему равно осмотическое давление клеточного сока?
51. При рассмотрении в микроскоп срезов одной и той же растительной ткани, погружённых в гипертонические растворы сахарозы и мочевины, обнаружилось, что раствор сахарозы вызвал стойкий плазмолиз, сохранявшийся длительное время, тогда как в растворе мочевины непродолжительный плазмолиз сменился самопроизвольным деплазмолизом. Как объяснить эти результаты?
52. Назовите факторы, влияющие на осмотические показатели.
53. Что такое жизнеспособность семян?
54. Назовите методы определения жизнеспособности семян.
55. Какие анилиновые красители применяются для определения жизнедеятельности семян?

## II. ОСНОВНЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

В составе живых клеток постоянно обнаруживается чуть более 20, а обязательными для выполнения жизненных функций считается всего 16. Химический состав активно функционирующих растительных клеток очень сходен (табл. 8).

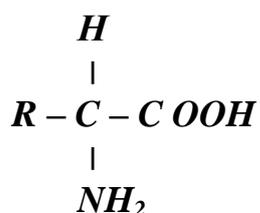
**Таблица 8** – Средний химический состав цитоплазмы и органелл растительной клетки, % (по Н.Н. Третьякову, 2000)

Часть клетки	Белки	Липиды	Нуклеиновые кислоты
Цитоплазма	60-70	15-20	5
Ядро	70	8	20
Хлоропласты	60-70	20-25	1-3
Митохондрии	55-60	25-35	1-3

Оставшаяся доля в сухом веществе цитоплазмы принадлежит углеводам, пигментам и пр., а также минеральному компоненту (примерно 5 %).

Из органических веществ, входящих в состав растений и других живых организмов, наиболее важными в биологическом отношении являются белковые вещества, или *белки*. *Белки* представляют собой высокомолекулярные органические соединения.

Структурными компонентами *белков* - их мономерами - являются *аминокислоты*. Несмотря на то, что в природе известно свыше 200 аминокислот, белки состоят в основном из 20 аминокислот. *Аминокислоты* - это производные кислот жирного или ароматического рядов, содержащие одновременно аминогруппу - NH<sub>2</sub> и карбоксильную группу - COOH. Большинство аминокислот имеет общую формулу:



Различают: *моноаминомонокарбоновые* кислоты (глицин, аланин, серин, цистеин, цистин, треонин, метионин, валин, лейцин, фенилаланин, изолейцин); *моноаминодикарбоновые* (аспарагиновая кислота, аспарагин, глутаминовая кислота, глутамин); *диаминомонокарбоновые* (лизин, аргинин) и *циклические* (тирозин, триптофан, гистидин). Все эти аминокислоты входят в состав белков, придают им разнообразные свойства.

Основная масса белков растений концентрируется в семенах и плодах. В состав белков входят углерод, кислород, водород, азот и сера. Элементарный состав белков довольно постоянен, и почти все они содержат 50-55% С, 20-24 % О, 6-7 % Н, 15-19 % N, 0-3 % S. В сложных белках присутствуют в небольшом количестве и другие элементы, чаще всего фосфор, железо, цинк и медь. К белкам, содержащим в своем составе металлы, чаще всего относятся *белки-ферменты*.

Все организмы содержат белковые вещества, и чем сложнее организм, тем разнообразнее функции, выполняемые белками. В растениях белки выполняют следующие функции: *структурную, ферментативную, транспортную, запасную и защитную*. В зависимости от выполняемой в живом организме функции белки делят на несколько классов.

Общее число отдельных белков очень велико. В простейшей бактериальной клетке содержится около 3000 различных типов белков, а в теле человека примерно 5 млн. белков. *Белки* – самые сложные из соединений, имеющих в природе.

*Клетка* – мельчайшая единица жизни, характеризующаяся определенным типом *обмена веществ*, самостоятельным энергетическим циклом и способностью к саморегуляции и саморазвитию. *Обмен веществ* – это совокупность всех происходящих в организме химических процессов. *Обмен веществ* складывается из двух противоположных процессов – *катаболизма* и *анаболизма*, протекающих в клетках одновременно. *Катаболизм* – это ферментативное расщепление крупных молекул – углеводов, жиров, белков, происходящее в результате гидролитических реакций и окисления. *Анаболизм* – это ферментативный синтез крупных молекул из более простых. При этом организм обладает способностью регулировать обмен веществ. Химические процессы осуществляются благодаря присутствию биологических катализаторов, называемых *ферментами*, которые способны в тысячи и даже миллионы раз ускорять течение химических реакций.

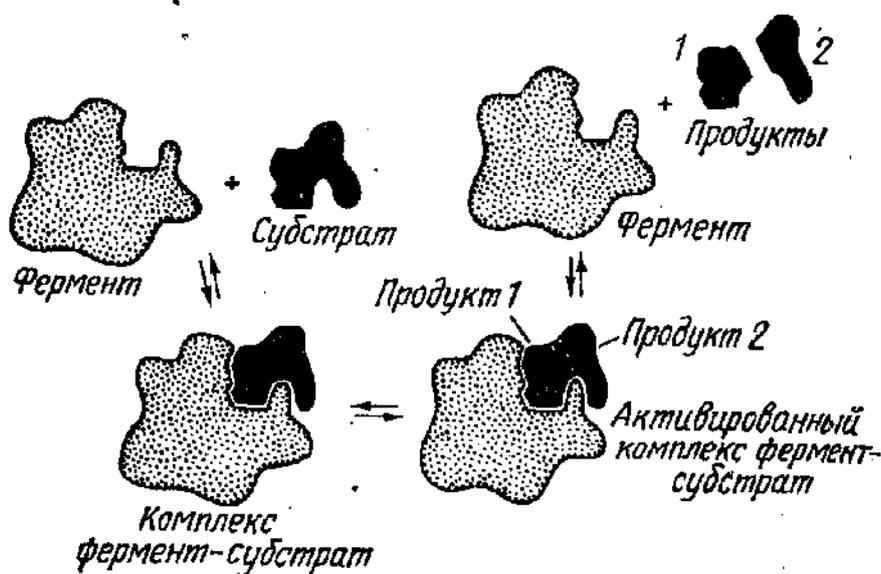
*Ферменты* - специфические белковые катализаторы, ускоряющие течение определенных химических реакций и играющие важную роль в обмене веществ.

Изучение ферментов имеет очень большое практическое значение, т.к. многие отрасли промышленности - виноделие, сыроварение, производство чая, табака, аминокислот, витаминов и т.д. - основаны на использовании различных ферментативных процессов.

Принцип действия ферментов основан на их способности временно связываться с субстратами, участвующими в реакции. По окончании реакции фермент освобождается из комплекса с субстратом и может вновь взаимодействовать со следующей его молекулой. Механизм действия ферментов связан со снижением *энергии активации*, необходимой для прохождения химической реакции. *Энергия активации* – такое количество энергии, которое необходимо затратить на то, чтобы привести все молекулы 1 моль вещества в активи-

рованное состояние, т. е. в такое состояние, когда при сближении взаимодействуют только молекулы, которые обладают достаточной для этого энергией.

Все ферменты разделяют на два класса: *однокомпонентные* и *двухкомпонентные*. К первому классу относят ферменты, состоящие только из белка, обладающего каталитическими свойствами, а ко второму – ферменты, которые состоят из белка и связанной с белком небелковой части, так называемой *активной группы* или *кофермент*. При взаимодействии *активной группы* с определенной частью молекулы субстрата и происходит образование комплекса фермент – субстрат. Субстрат подходит к активному центру фермента, как ключ к замку (рис. 5).



**Рисунок 5. Взаимодействие фермента с субстратом**

Главным специфическим признаком, на основании которого отличают один фермент от другого, является химическая реакция, катализируемая данным ферментом. Все ферменты подразделяют на 6 классов: *оксидоредуктазы*, *трансферазы*, *гидролазы*, *лиазы*, *изомеразы*, *синтетазы*.

За *стандартную единицу* (Е) любого фермента принимается такое количество фермента, которое катализирует превращение одного микромоля данного субстрата за 1 минуту при оптимальных условиях (обычно при 30°C, оптимальном для данного фермента значении рН и оптимальной концентрации субстрата). *Активности ферментов* определяют по начальной скорости реакции, а не по количеству субстрата, превращенного к концу определенного периода времени, т.к. при большой продолжительности времени реакции скорость ее может постепенно снижаться вследствие образования продуктов, тормозящих реакцию, или значительного снижения концентрации прореагировавшего субстрата.

Для оценки активности определенных ферментных препаратов пользуются понятиями *удельной* и *молекулярной активности*. *Удельная активность* выражается числом единиц фермента на один миллиграмм белка. *Молекулярная активность* – это число молекул субстрата, превращаемых за одну минуту одной молекулой фермента. *Число оборотов* – это число молекул субстрата, подвергающихся превращению за 1 минуту в расчете на одну молекулу фермента в условиях, когда скорость реакции не лимитируется концентрацией субстрата.

Еще одним важнейшим компонентом клетки являются *липиды*. *Липидами* называются жиры и жироподобные вещества растительного и животного происхождения, близкие по своим физико-химическим свойствам, но различающиеся по биологической роли в организмах. Все липиды *гидрофобны*, т.е. нерастворимы в воде. Липиды хорошо растворимы в эфире, ацетоне и бензоле.

Жиры представляют собой смесь триацитилглицеринов – сложных эфиров глицерина и высших жирных кислот и построены по следующей схеме:



где  $R_1, R_2, R_3$  – остатки высших жирных кислот.

Всего в состав растительных жиров может входить до 50 различных жирных кислот, которые бывают *насыщенные* - твердые (при комнатной температуре) и *ненасыщенные* – жидкие.

Насыщенные кислоты: *капроновая, каприловая, каприновая, лауриновая, миристиновая, пальмитиновая, стеариновая, арахидиновая.*

Ненасыщенные кислоты: *пальмитолеиновая, олеиновая, линолевая, линоленовая, рацинолевая, эруковая.*

Липиды могут быть разделены на две группы: *жиры* и жироподобные вещества, так называемые *липоиды*. К *липоидам* относятся фосфоглицериды, гликолипиды, воска, стероиды и другие соединения. К липидам относят также жирорастворимые витамины. Жиры и липоиды, содержащиеся в растениях, могут находиться в них в форме запасного жира или являться структурным компонентом цитоплазмы клеток. Запасные и цитоплазматические жиры выполняют различные биохимические функции. Запасной жир откладывается в определенных органах растений, чаще в семенах, и используется затем в качестве энергетического материала, а цитоплазматические липиды являются составной частью клеток и содержатся в них в постоянных количествах. Из липидов и липопротеидов (белок + липид) построены мембранные слои на поверхности клеток и клеточных структур – митохондрий, пластид, ядер. Некоторые липоиды (воска), находящиеся на поверхности листьев и стеблей растений, выполняют защитную роль.

Основными константами, характеризующими свойства жира, являются *температура плавления, кислотное число, йодное число и число омыления.*

*Температура плавления* зависит от преобладания в жире тех или иных жирных кислот. Если в жирах больше насыщенных кислот – пальмитиновой, стеариновой, миристиновой – с высокими температурами плавления, то жир будет твердым при обычной температуре, а если преобладают ненасыщенные кислоты, жиры будут иметь жидкую консистенцию.

*Кислотное число* – количество миллиграммов едкого калия необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира.

*Число омыления* – количество миллиграммов едкого калия, необходимое для нейтрализации свободных и связанных в виде ацетилглицеринов кислот, содержащихся в 1 г жира. Число омыления характеризует среднюю величину молекулярной массы ацетилглицеринов, которые входят в состав жиров.

*Йодное число* – количество граммов йода, которое способно присоединиться к 100 г жира. Чем выше йодное число, тем более жидкие жиры и тем скорее они окисляются.

*Углеводы* – один из важнейших классов природных соединений и наиболее распространенные соединения, содержащиеся в растениях. В большинстве сельскохозяйственных растений количество углеводов достигает 80-90 % сухой массы. В отдельных органах и тканях растений в преобладающем количестве содержатся разные углеводы: в плодах и овощах – моносахариды и сахара; в семенах злаков и бобовых культур, а также в клубнях картофеля – крахмал; в древесине и соломе – целлюлоза, гемицеллюлоза, пентозаны.

Их химический состав суммарно может быть выражен так:  $(\text{C}_n\text{H}_m\text{O}_n)_n$ .

Синтез углеводов в растении происходит за счет световой энергии и усвоения диоксида углерода в присутствии хлорофилла. Этот процесс получил название фотосинтеза, который является источником образования органических соединений на Земле.

Углеводы в живом организме используются для самых разнообразных процессов обмена веществ. Из них образуются органические кислоты, спирты, жиры и ряд других органических соединений. За счет углеводов развиваются новые органы и ткани растений, углеводы откладываются в виде запасных веществ. Они являются опорным материалом растительных клеток и тканей, обеспечивающих прочность. Пищевая ценность растительных продуктов как источника энергии определяется главным образом содержанием в них углеводов.

По химическому составу углеводы делятся на три основных класса: моносахариды, олигосахариды и полисахариды. *Моносахариды* содержат от трех до семи углеродных атомов. *Олигосахариды* – это олигомеры моносахаридов, содержащие от двух до десяти мономерных звеньев, а *полисахариды* представляют собой высокополимерные соединения, построенные из десятков или тысяч остатков моносахаридов.

*Витамины* – низкомолекулярные, биологически активные органические соединения разнообразной природы, необходимые для нормальной жизнедеятельности организмов.

Витамины тесно связаны с ферментами, так как входят в состав активных групп двухкомпонентных ферментов.

При отсутствии или недостаточном количестве витаминов в пище у человека и животных ослабляются биохимические процессы и наступают глубокие нарушения обмена веществ, приводящие к тяжелым заболеваниям, а иногда и к гибели животных организмов. Заболевания, связанные с резким недостатком или отсутствием витами-

нов, называют *авитаминозами*. При резком избытке витаминов в пище также могут наблюдаться нарушения в процессах обмена веществ, в результате которых возникают заболевания - *гипервитаминозы*.

Растения обладают способностью синтезировать все необходимые им витамины, человек получает их с продуктами питания, а животные - с кормами. Поэтому определение витаминов в растениях необходимо, прежде всего, для оценки пищевой и кормовой ценности растительных продуктов.

По сравнению с углеводами, белками или жирами витаминов в растениях значительно меньше.

Открытие витаминов и последующее изучение их свойств - одно из самых крупных достижений биохимии XIX века, так как практическое использование этого открытия дало возможность сохранить здоровье и жизнь многих миллионов людей.

К витаминам относят несколько десятков различных химических соединений; некоторые из них обладают аналогичной витаминной активностью, и поэтому их объединяют в родственные группы, иногда обозначаемые как один витамин. Классифицируют витамины обычно на основании их растворимости в воде или в жирах, хотя можно использовать и их химическую классификацию.

Наряду с белками, углеводами, липидами и витаминами в растениях содержатся различные вещества, которые называются *веществами вторичного происхождения*. Они часто играют важную роль в обмене веществ у растений.

Многие из этих веществ, например, некоторые органические кислоты, образуясь в растении, тотчас же используются клеткой для различных синтетических процессов, поэтому и не накапливаются в большом количестве и являются промежуточными продуктами обмена веществ.

Некоторые из этих веществ, накапливаясь в растении нередко в большом количестве (фенольные соединения, алкалоиды, каучук, эфирные масла), обуславливают тем самым специфику их обмена. Отсюда следует, что термин вещества вторичного происхождения нужно применять как весьма условный.

Другие представители этой группы веществ определяют пищевое и вкусовое достоинство различных продуктов – их вкус и аромат; многие из них широко используются в технике и медицине.

Все вещества вторичного происхождения могут быть разделены на следующие группы:

- *органические кислоты* алифатического ряда, играющие важную роль в обмене веществ, определяющие вкус многих пищевых продуктов;
- *гидроароматические соединения*, встречающиеся в растениях в свободном виде, а также в виде эфиров;
- *фенольные соединения* – играют важную роль в обмене веществ и имеют большое практическое значение;
- *гликозиды* – вещества, от которых зависит вкус и аромат некоторых пищевых продуктов растительного происхождения. Многие из них широко применяются в медицине;
- *эфирные масла* – легколетучие вещества, содержащиеся во многих растениях. Применяются в парфюмерной промышленности;
- *каучук и гуттаперча* – вещества, играющие исключительно важную роль в ряде отраслей промышленности;
- *алкалоиды* – азотистые гетероциклические соединения, оказывающие весьма сильное физиологическое действие на животный организм. Многие из них применяются в медицине;

- *регуляторы роста растений и микроорганизмов, антибиотики.* Разнообразные вещества, оказывающие сильное стимулирующее или задерживающее действие на рост высших растений и микроорганизмов. Применяются в медицине.

*Нуклеиновые кислоты* наряду с белками являются важнейшими биополимерами, образующими цитоплазму живой клетки. Они обеспечивают хранение и передачу генетической информации и принимают непосредственное участие в биосинтезе белков в клетках, в том числе и белков-ферментов.

В состав *нуклеиновых кислот* входят *нуклеотиды*. *Нуклеотид* состоит из азотистого основания, связанного с ним пятиуглеродного углевода и остатка ортофосфорной кислоты. Важное значение *нуклеотидов* состоит в том, что из них построены молекулы *нуклеиновых кислот*; что они входят в состав ряда важнейших *ферментов*; а некоторые из них являются веществами, в которых аккумулируется энергия, необходимая для осуществления процессов жизнедеятельности.

Нуклеиновые кислоты подразделяют на *рибонуклеиновые (РНК)* и *дезоксирибонуклеиновые (ДНК)*. Они различаются по составу. ДНК в основном содержится в ядрах клеток, а РНК – в цитоплазме и ядре.

В клетках РНК бывает трех типов: информационная или матричная (мРНК), рибосомальная (рРНК) и транспортная (тРНК).

Все функции нуклеиновых кислот обеспечиваются принципами *комплиментарности* и *матричного воспроизводства*. *Комплиментарность* проявляется в том, что азотистые основания взаимодействуют друг с другом благодаря образованию водородных связей строго попарно (*аденин с тимин* или *урацил*, а *гуанин с цитозин*).

## РАБОТА 9

### Получение раствора растительного белка и реакции его осаждения

При рассмотрении механизма осадочных реакций следует исходить из того, что белки являются амфотерными электролитами, и устойчивость их коллоидных растворов обусловлена зарядом и наличием водной оболочки.

Все реакции осаждения можно разделить на две группы: обратимые и необратимые (денатурация). *Денатурация белка* - это внутримолекулярная перегруппировка его молекулы, не сопровождающаяся расщеплением пептидной связи. Аминокислотная последовательность белка не изменяется.

Денатурация вызывается высокими температурами - нагреванием раствора белка до 60...80 °С, действием низких и высоких значений рН, интенсивным перемешиванием растворов белка или встряхиванием, а также действием поверхностно-активных веществ, обладающих полярными молекулами.

Различают обратимую и необратимую денатурацию. При необратимой денатурации, когда белки подвергаются сравнительно слабым неблагоприятным воздействиям, белки могут вновь приобретать биологическую активность в случае прекращения действия денатурирующего агента или при добавлении каких-либо других веществ, а при необратимой денатурации биологическую активность денатурированных белков восстановить нельзя.

**Цель работы:** получить раствор растительного белка и изучить его основные свойства.

**Объект исследования:** гороховая мука.

**Ход работы.** I. *Получение вытяжки белка.* 5 г гороховой муки насыпать в колбочку и залить 25 мл 10%-ного раствора сернокислого

аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , встряхивать три минуты. Затем дать настояться 30 минут и профильтровать через фильтр, предварительно смоченный тем же раствором сернокислого аммония. Полученный фильтрат является коллоидным раствором белка глобулина (легумина), с которым проделать следующие реакции.

*II. Осаждение глобулина.* Налить в пробирку 1 мл раствора и прибавить 10-15 мл воды, встряхнуть. В другую пробирку налить столько же чистой воды и сравнить обе пробирки. В пробирке с глобулином образуется тонкая муть, вследствие выпадения белка в осадок. Если в эту пробирку добавить раствор сернокислого аммония, то муть постепенно исчезнет благодаря растворению выпавшего осадка белка.

*III. Высаливание белка.* Высаливанием белка называется обратимое осаждение белка при помощи нейтральных солей (сульфат магния, хлористый натрий, сульфат натрия). Реакция обусловлена снятием водных оболочек с белковых мицелл и одновременной нейтрализацией электрического заряда.

В чистую пробирку налить 2 мл вытяжки белка и насыпать сухой поваренной соли NaCl. Когда концентрация раствора достигнет примерно 50%, глобулин начнет выпадать в осадок, раствор будет мутнеть. Затем налить избыточное количество воды и встряхнуть. В результате муть исчезнет, т.к. белок растворится.

*IV. Денатурация белка.* Налить в чистую пробирку 2 мл вытяжки глобулина и добавить 3 капли крепкой соляной кислоты. Белок выпадает в виде белого осадка. Белок свернется необратимо, т.к. осадок не растворится при добавлении раствора сернокислого аммония.

Такой же результат получится, если вытяжку белка прокипятить.

**Оформление работы.** Записать вывод по каждому пункту хода работы.

**Материалы и оборудование:** гороховая мука, 10%-ный раствор сульфата аммония, крепкая соляная кислота, колба, воронки, пробирки, фильтровальная бумага, сухая поваренная соль, водяная баня.

## РАБОТА 10

### Цветные реакции на белки

Наличие специфических связей и химических группировок, содержащихся в аминокислотных радикалах полипептидной цепи белка, определяют характерные цветные реакции. Реакционная способность и интенсивность окраски образующихся продуктов указывает на особенности химической структуры веществ и их качественное содержание. На основе цветных реакций разработаны и широко применяются методы количественного и качественного анализа белковых веществ.

**Цель работы:** изучить особенности белков и их физико-химических свойств.

**Объект исследования:** гороховая мука.

**Ход работы.** Приготовить вытяжку глобулина (см. работу № 9).

*I. Биуретовая реакция.* Реакция обусловлена наличием в молекуле белка пептидных связей (-CO-NH-).

Налить в пробирку 1 мл вытяжки белка, добавить 2 мл 20%-го раствора NaOH и взболтать. Затем прибавить 4-5 капель слабого раствора CuSO<sub>4</sub>. Образующийся осадок гидрата окиси меди в присутствии белка окрасит раствор в сиренево-фиолетовый цвет.

*II. Ксантопротеиновая реакция.* Она обусловлена образованием нитросоединений ароматическими и некоторыми гетероциклическими группами белка, указывает на присутствие в молекуле полипептида ароматических аминокислот – фенилаланина, тирозина, триптофана.

В чистую пробирку налить 2 мл вытяжки белка и 0,5 мл крепкой азотной кислоты, и нагреть до кипения. При этом белок свернется и окрасится в желтый цвет. Раствор остудить и добавить около 1 мл аммиака. В результате желтый цвет перейдет в оранжевый.

*III. Миллонова реакция.* Она является качественной реакцией на белки, содержащие фенольный радикал, протекает в присутствии реактива Миллона.

В чистую пробирку налить 2 мл раствора белка и добавить 1 мл азотнортутного реактива Миллона. При этом происходит денатурация белка и выпадение его в осадок. Затем нагреть пробирку на водяной бане до 50<sup>0</sup>С. В результате осадок окрасится в мясо-красный цвет.

*IV. Реакция с уксусно-кислым свинцом.* Она указывает на наличие в белковой молекуле цистеина и цистина, содержащих атомы серы.

В чистую пробирку налить 1 мл раствора белка и добавить двойной объем гидроксида натрия, перемешать и прокипятить 2-3 минуты. Затем налить 0,1-0,2 мл раствора уксусно-кислого свинца и продолжить нагревание до появления черного осадка.

**Оформление работы.** Результаты опыта зарисовать и сделать соответствующие выводы.

**Материалы и оборудование:** гороховая мука, 10%-ный раствор сульфата аммония, 20%-ный раствор NaOH, CuSO<sub>4</sub>, крепкая азотная кислота, аммиак, реактив Миллона, уксусно-кислый свинец, колба, воронки, пробирки, фильтровальная бумага, водяная баня.

## РАБОТА 11

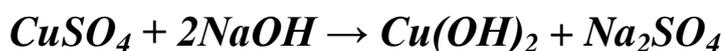
### Обнаружение запасных сахаров в растительном материале

Моносахариды, содержащие альдегидные группы, получили название *альдозы*, а кетонные группы – *кетозы*. Благодаря этим

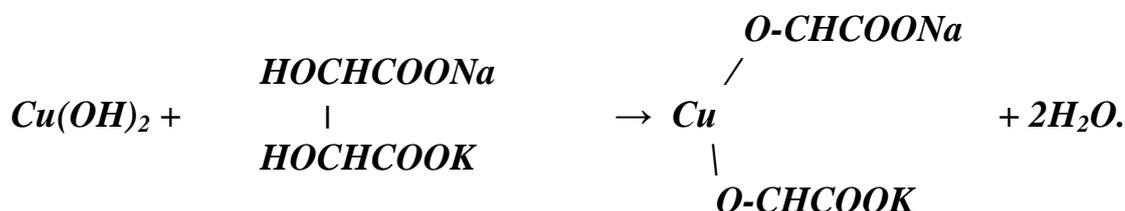
группам моносахариды способны окисляться до соответствующих кислот, обладая, таким образом, *редуцирующими свойствами*, которые используются для ряда качественных реакций и количественных определений. Редуцируют также некоторые дисахариды (сахароза), имеющие в своей структуре полуацетальный (гликозидный) гидроксил.

Характерная реакция на редуцирующие сахара – реакция восстановления фелинговой жидкости, которую готовят непосредственно перед употреблением.

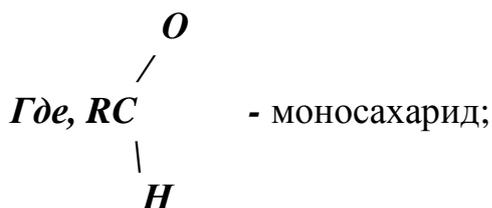
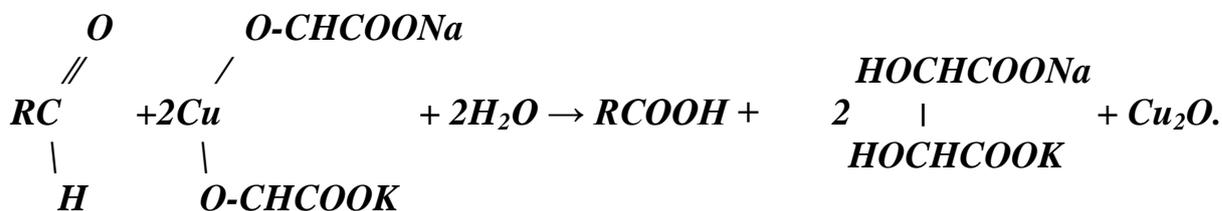
При смешивании медного купороса со щелочью идет реакция:



В присутствии сегнетовой соли в щелочной среде гидрат окиси меди в осадок не выпадает, так как образуется комплексное соединение:



Фелингова жидкость окисляет альдегидные и кетонные группы. При взаимодействии раствора сахара с фелинговой жидкостью сахар окисляется и образуется закись меди:



$RCOOH$  – кислота, образующаяся в результате окисления моносахарида.

По количеству образовавшейся закиси меди можно судить о содержании сахара в растворе.

Для обнаружения сахарозы сначала необходимо подвергнуть ее гидролизу на глюкозу и фруктозу, а затем подействовать жидкостью Фелинга.

**Цель работы:** Проанализировать растительный материал на наличие редуцирующих и запасных сахаров.

**Объект исследования:** корнеплоды красной свеклы (*Beta vulgaris*), корнеплоды моркови (*Daucus carota*), плоды яблони домашней (*Malus domestica*), лук (*Allium cepa*).

**Ход работы.** Сначала необходимо провести контрольный опыт. Для этого необходимо взять три пробирки и поместить в первую щепотку глюкозы, во вторую и третью – сахарозы. Добавить во все пробирки небольшое количество дистиллированной воды. К раствору первой и второй пробирок прилить равные объемы фелинговой жидкости и нагреть до кипения. В третью пробирку добавить 2-3 капли 20%-й соляной кислоты и прокипятить в течение одной минуты. Затем, для нейтрализации кислоты, добавить карбонат натрия до прекращения выделения углекислого газа. После прилить равный объем фелинговой жидкости и вновь довести до кипения.

Отметить, образуется ли в пробирках осадок, и объяснить почему.

Для определения редуцирующих сахаров в растительном материале исследуемые растения мелко нарезать. Затем поместить в отдельные пробирки, примерно на  $\frac{1}{4}$  пробирки, залить водой и нагреть в кипящей водяной бане в течение 5-10 мин. После этого вытяжки профильтровать в сухие пробирки. Полученный фильтрат в равных объемах перенести в две пробирки. С первой порцией фильтрата провести реакцию на редуцирующие сахара сразу, а с другой после ее гидролиза соляной кислотой.

**Оформление работы.** Результаты наблюдений записать в таблицу 9 и сделать вывод о наличии в материале редуцирующих сахаров и сахарозы.

**Таблица 9** – Количество закиси меди в растениях в баллах

Объект исследования	Количество закиси меди в баллах	
	без гидролиза	после гидролиза

**Материалы и оборудование:** свежий растительный материал (морковь, лук, свекла, яблоко), глюкоза, сахароза, раствор сернокислой меди, 4%-й щелочной раствор сегнетовой соли (200 г сегнетовой соли и 150 г едкого калия или едкого натрия в 1 л воды), 20%-я соляная кислота, карбонатный натрий порошкообразный, скальпели, штатив с пробирками, водяная баня, пипетки на 10 мл, воронки, бумажные фильтры, стаканчики.

## РАБОТА 12

### Получение растворов моносахаридов, дисахаридов и полисахаридов

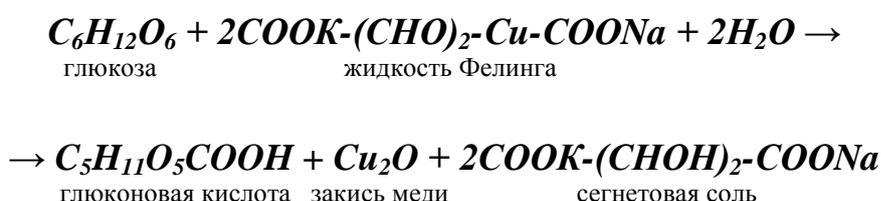
Наиболее распространенными и более простыми по химизму запасными веществами растений являются углеводы: глюкоза, фруктоза, сахароза, крахмал и т.п.

**Цель работы:** получить растворы глюкозы, сахарозы, мальтозы и крахмала.

**Объект исследования:** корнеплоды красной свеклы (*Beta vulgaris*), корнеплоды моркови (*Daucus carota*), проросшие семена ячменя (*Hordeum vulgare*), крахмал.

**Ход работы.** *Получение моносахарида.* Для получения раствора моносахарида (глюкозы -  $C_6H_{12}O_6$ ) натереть корнеплод моркови на

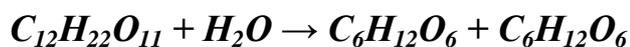
терке в мезгу. Взять 5 г мезги, поместить в колбочку, добавить 15 мл дистиллированной воды, кипятить 5 минут и отфильтровать вытяжку в пробирку. Для проверки содержится ли восстанавливающий моносахарид в вытяжке (глюкоза), проделать реакцию с фелинговой жидкостью. Если в фильтрате есть глюкоза, имеющая в молекуле альдегидную группу, то окись меди фелинговой жидкости восстановится в закись меди, выпадающую в виде кирпично-красного осадка. Реакция пойдет по уравнению:



Для реакции налить 2 мл вытяжки в пробирку и добавить 1 мл фелинговой жидкости, прокипятить 3-5 минут. Зарисовать пробирку с осадком закиси меди и сделать вывод.

*Получение дисахарида. Сахароза.* Дисахарид сахарозу (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) получают из корнеплода сахарной свеклы. Для этого свеклу растереть в мезгу, взять 20 г мезги, перенести в колбочку и залить 50 мл дистиллированной воды. Тщательно размешать и настаивать 20 минут, после чего профильтровать. Затем взять две порции фильтрата: в одну пробирку 1 мл, а в другую 10 мл. С порцией в 1 мл сразу проделывают реакцию с фелинговой жидкостью, т. е. проверяют наличие в фильтрате восстанавливающих моносахаридов (см. предыдущую работу). В корнеплоде сахарной свеклы содержится обычно около 1% моносахаридов (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>), поэтому в реакции фелинга вытяжка из корнеплода дает очень небольшой осадок закиси меди. При работе с раствором химически чистой сахарозы с фелинговой жидкостью осадка не получается, так как сахароза не имеет альдегидной группировки атомов и фелинговую жидкость не восстанавливает.

Во вторую порцию фильтрата в 10 мл добавить 3 капли крепкой HCl и кипятить на водяной бане 20-25 минут. При этом происходит реакция гидролиза дисахарида в моносахарид по уравнению:



После гидролиза сахарозы взять в пробирку 2 мл гидролизата, нейтрализовать содой ( $Na_2CO_3$ ), добавить 1 мл фелинговой жидкости и кипятить 3-5 минут, т.е. проверим действительно ли сахароза превратилась в восстанавливающий сахар монозу. В результате фелинговой реакции убеждаемся выпадающим в большом количестве осадком закиси меди в превращении сахарозы в глюкозу Вид пробирки зарисовать.

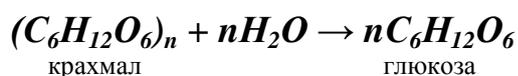
*Мальтоза* ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ). Мальтозу получают из проросших семян ячменя, тщательно измельченных (солод). Перенести 10 г солода в колбочку и залить 25 мл дистиллированной воды, подогретой до  $30^\circ C$ , тщательно перемешать, 20 мин настаивать, затем профильтровать. С полученной вытяжкой проделать реакцию с фелинговой жидкостью. Дисахарид мальтоза имеет в молекуле свободную альдегидную группу, поэтому в реакции Фелинга выпадает большой осадок закиси меди кирпично-красного цвета. Пробирку с осадком зарисовать.

*Получение полисахарида.* Крахмал ( $C_6H_{12}O_6$ )<sub>n</sub>. Взять 1 г крахмала и добавить в пробирку, залить его 10 мл холодной воды и взболтать. Крахмал в холодной воде нерастворим, лишь слабо набухает. Дать раствору отстояться. В этом опыте убеждаемся, что весь крахмал осядет не растворившись. Провести реакцию на йод, добавив в пробирку несколько капель раствора йода. содержимое пробирки посинеет.

В горячей воде крахмал растворяется в клейстер с коллоидными свойствами. В колбочку насыпать 1 г крахмала, долить 50 мл воды,

тщательно перемешать и прокипятить 5 минут. В результате получим 2%-ный крахмальный клейстер в виде жидкого прозрачного студня. Для проверки некоторых свойств крахмала в клейстере проделать йодную и фелинговую реакцию: в чистую пробирку налить несколько капель клейстера и добавить 1 каплю йода; посинение от йода убеждает в том, что крахмал в клейстере химически не изменился; далее взять в чистую пробирку 2 мл двухпроцентного крахмального клейстера и добавить 1 мл фелинговой жидкости, довести раствор до кипения. В результате видно что крахмал не способен восстанавливать фелинговую жидкость. Результаты зарисовать.

Далее проводим кислотный гидролиз крахмала. Взять в пробирку 5 мл 2%-ного крахмального клейстера, добавить 3- 4 капли крепкой HCl и прокипятить в течение 30 минут. За это время происходит гидролиз крахмала по уравнению:



Чтобы убедиться в том, что в результате гидролиза крахмала получилась глюкоза, проделать реакцию Фелинга: взять в пробирку 2 мл гидролизата, нейтрализовать его содой, добавить 1 мл фелинговой жидкости и кипятить 3-5 минут. Сильный осадок закиси меди убеждает в правильности выводов.

**Оформление работы.** Результаты опытов записать в таблицу 10, сделать выводы.

**Таблица 10** – Реакции сахаров с йодом и фелинговой жидкостью

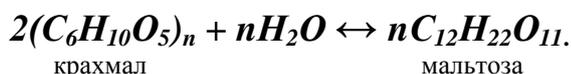
Название углевода	Формула	Растворимость в воде	Реакции с	
			йодом	фелинговой жидкостью

**Материалы и оборудование:** свежий растительный материал (морковь, свекла), крахмал, проросшие семена ячменя, раствор йода в йодистом калии, фелингова жидкость, крепкая HCl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, пробирки, колбочки, воронки, штатив, пипетки, бумажные фильтры, часовые стекла, весы, водяная баня, электроплитка, цветные карандаши.

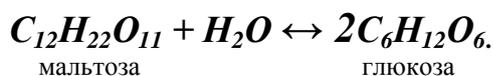
## РАБОТА 13

### Гидролиз крахмала под действием амилазы (диастазы)

Ферментативный гидролиз крахмала всегда имеет место при прорастании семян, при оттоке ассимилянтов из листьев и т. п. Фермент амилаза (диастаза) осуществляет в водном растворе постепенный гидролиз крахмала с образованием промежуточных продуктов - декстринов, представляющих частички молекулы крахмала, при этом конечным продуктом амилазного гидролиза является дисахарид - мальтоза. Реакция протекает по уравнению:



в дальнейшем гидролизе дисахарида - мальтозы до гексозы участвует фермент мальтаза, реакция идет по уравнению:



**Цель работы:** убедиться в том, что под действием амилазы происходит гидролиз крахмала.

**Объект исследования:** проросшие семена ячменя (*Hordeum vulgare*) и пшеницы (*Triticum aestivum*), крахмал.

**Ход работы.** I. Для получения вытяжки амилазы (диастазы) взять 2 г проросших семян ячменя, тщательно измельчить, перенести в колбочку и залить 15 мл теплой (35°C) воды. Перемешивая, дать настояться 30 минут, а затем профильтровать. Эту часть работы мо-

жет выполнить дежурный или лаборант из расчета на группу. В вытяжке будут находиться фермент амилаза, продукты превращения ячменного крахмала семени и другие вещества, которые легко экстрагируются.

Гидролиз крахмала провести следующим образом. Расставить 20 пробирок в два ряда, налить в них по 5 мл слабого раствора йода (светло-желтой окраски). Нагреть воду в водяной бане до 45-50°C.

Затем в две чистые пробирки налить по 5 мл крахмального клейстера и по 1 мл солодовой вытяжки и хорошо взболтать. Сразу же из этих пробирок внести по 0,5 мл раствора в первую пару пробирок с йодистой водой. После этого одну пробирку с солодовой вытяжкой и крахмальным клейстером поместить в водяную баню с температурой воды 45-50 °С, а вторую пробирку оставить в штативе при комнатной температуре. Из пробирки на водяной бане через каждые 3 минуты берут по 0,5 мл гидролизующегося клейстера и опускают в очередные пробирки с раствором йода. Из пробирки, где гидролиз крахмала идет при комнатной температуре, пробы берут через каждые 6 минут. Из пипетки после взятия пробы остаток выдувается обратно в пробирку и пипетка опускается в ту же пробирку для взятия новой пробы. Содержимое пробирки периодически перемешивается пипеткой.

По мере гидролиза крахмального клейстера йодистая вода будет по-разному окрашиваться от клейстера; в самой первой пробе, пока гидролиз еще не начался, будет синяя окраска, характерная для крахмала. Далее пробы последовательно дадут сине-фиолетовую, фиолетовую, вишнево-красную, красную, розовую и в заключение - когда гидролиз закончится - золотисто-желтую окраску, характерную для йодистой воды.

**Оформление.** Результаты записать в таблицу 11, указывая в соответствующей графе окраску раствора йода и сделать выводы.

**Таблица 11** – Активность амилазы в зависимости от температуры

Температура, °С	Продолжительность гидролиза, мин										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Комнатная 40-50 °С											

*II.* Изучение разъедания амилазой крахмальных зерен в проросших семенах пшеницы. Из разрезанного вдоль семени вблизи зародыша иголкой вынуть крупинку крахмала и поместить ее в каплю воды на предметное стекло. Крупинку тщательно раздавить иголкой в капле воды, накрыть покровным стеклом и рассмотреть под микроскопом. В результате видно, что поверхность крахмальных зерен в проросшем семени имеет углубления, бороздки, что встречаются кусочки распавшихся крахмальных зерен и т.п. (рис. 6).

**Оформление.** Наблюдения зарисовать.



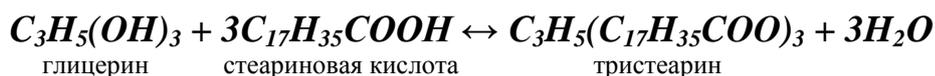
*Рисунок 6. Разъедание крахмальных зерен амилазой*

**Материалы и оборудование:** проросшие семена ячменя и пшеницы, 2%-й крахмальный клейстер, раствор йода в йодистом калии, фелингова жидкость, ступка, пестик, бумажные фильтры, водяная баня, технические весы, пробирки, штативы, воронки, колбочки, иглы, предметные и покровные стекла, микроскопы, цветные карандаши.

## РАБОТА 14

### Растительные жиры и их основные свойства

Растительные масла, например подсолнечное, состоят из смесей жиров. Биосинтезы жиров в растениях идут с участием ферментов липаз по следующей схеме:



Химически чистые жиры бесцветны; природные растительные масла обычно окрашены каротином, ксантофиллом и продуктами распада хлорофилла.

Жиры под действием кислорода воздуха и при участии ряда ферментов портятся, прогаркают. Если жиры подвергаются действию фермента липазы, то происходит их разложение. Жирные кислоты, выделяющиеся в результате этого, придают им неприятный запах и вкус. Кислотное число жира при этом повышается. При погаркании происходит окисление жиров в результате присоединения кислорода с образованием перекисей. Образовавшиеся перекиси подвергаются затем разложению с образованием альдегидов и кетонов, которые обладают неприятным вкусом и запахом.

Под действием кислорода происходит и высыхание жиров, которое заключается в их окислении, с образованием воды, углекислоты, летучих альдегидов и низкомолекулярных кислот.

**Цель работы:** научиться определять жиры в растениях и изучить их основные свойства.

**Объект исследования:** семена подсолнечника (*Helianthus annuus*), подсолнечное масло.

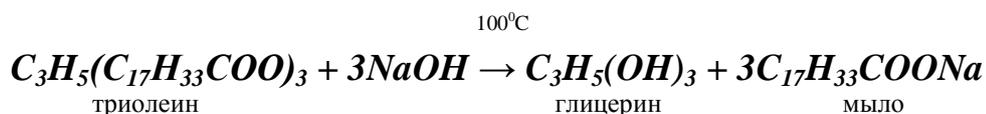
**Ход работы.** I. *Определение жира.* Взять проросшие и непроросшие семена подсолнечника, сделать с них тонкие срезы и поместить на предметное стекло. Нанести на срезы по капле раствора Су-

дан III и накрыть покровным стеклом. Через пять минут рассмотреть срезы под микроскопом и дать оценку содержания жира по количеству окрашенных в красный цвет капель.

*II. Получение эмульсий.* Налить в пробирку 5-10 мл воды и добавить 1 мл подсолнечного масла, закрыть пробирку большим пальцем и трясти в течение 3 минут. Масло, разбиваясь на мелкие капли, дает эмульсию. При отстаивании этой смеси очень скоро все капельки масла соберутся в один слой на поверхности воды. Время, требующееся для полного отделения масла от воды, характеризует устойчивость эмульсии.

В другую пробирку налить 10 мл воды и добавить 2-3 капли 10%-ной NaOH и тщательно взболтать. Затем в пробирку добавить 1 мл подсолнечного масла и взболтать в течение 3 минут. При этом в подщелоченной воде капельки масла станут гораздо мельче, и эмульсия будет устойчивей. После встряхивания поставить пробирку в штатив и проследить в минутах за разделением масла и воды. В итоге опыта вычислить во сколько раз масло в стойкой эмульсии дольше держится в воде, чем в нестойкой.

*III. Омыление жиров.* При действии кислот и щелочей на жиры происходит расщепление эфирной связи, называемое *омылением жиров*:



Для омыления жира поместить две капли подсолнечного масла в пробирку, прибавить 2 мл 20%-ного спиртового раствора NaOH и осторожно нагреть до кипения. При этом жир распадается (присоединяя три молекулы воды) на глицерин и жирные кислоты. Последние немедленно вступают в реакцию со щелочью, образуя соли жирных кислот, называемые мылами. Добавить в пробирку примерно 15 мл воды и тщательно встряхнуть. Содержимое про-

бирки растворится в воде, что подтверждает превращение жира в растворимые в воде продукты гидролиза.

**Оформление работы.** По результатам сделать соответствующие выводы.

**Материалы и оборудование:** проросшие и непроросшие семена подсолнечника, подсолнечное масло, 10%-ный раствор NaOH, штатив с пробирками, электроплитка, водяная баня, раствор краски Судан III, предметные и покровные стекла, микроскопы, лезвия, препаровальные иглы, цветные карандаши.

## РАБОТА 15

### Определение химических констант масла

Основными константами, характеризующими свойства жира, являются температура плавления, кислотное число, йодное число и число омыления.

*Температура плавления* зависит от преобладания в жире тех или иных жирных кислот. Если в жирах больше насыщенных кислот – пальмитиновой, стеариновой, миристиновой – с высокими температурами плавления, то жир будет твердым при обычной температуре, а если преобладают ненасыщенные кислоты, жиры будут иметь жидкую консистенцию.

*Кислотное число* – количество миллиграммов едкого калия необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира.

*Число омыления* – количество миллиграммов едкого калия, необходимое для нейтрализации свободных и связанных в виде ацетилглицеринов кислот, содержащихся в 1 г жира. Число омыления характеризует среднюю величину молекулярной массы ацетилглицеринов, которые входят в состав жиров.

*Йодное число* – количество граммов йода, которое способно присоединиться к 100 г жира. Чем выше йодное число, тем более жидкие жиры и тем скорее они окисляются.

Под действием кислот и щелочей происходит расщепление эфирной связи с присоединением воды, так называемое *омыление жира*, которое сопровождается образованием свободного глицерина и жирных кислот:

**Цель работы:** научиться определять основные химические константы масла.

**Объект исследования:** подсолнечное масло.

**Ход работы.** *I. Кислотное число.* В чистой сухой колбе на аналитических весах взвесить 1 г масла, прибавить 30 мл предварительно нейтрализованной смеси эфира с 96%-ным спиртом (приготавливается путем смешивания равных объемов спирта и эфира или двух объемов эфира и одного объема спирта) и растворяют масло. Если оно растворяется плохо, смесь в колбе тщательно перемешивать и слабо нагреть в горячей воде при встряхивании.

После растворения жира в колбу добавить несколько капель 1%-го спиртового раствора фенолфталеина и титровать 0,1 н. спиртовым или водным раствором КОН до появления ярко-розовой окраски. Если для исследования было взято темно-окрашенное масло, в котором трудно наблюдать появление розовой окраски, вместо фенолфталеина взять 1%-ный раствор тимолфталеина и оттитровать до появления синей окраски.

Величину кислотного числа вычислить по формуле:

$$x = \frac{a \cdot 5,61 \cdot T}{n}$$

где  $x$  – кислотное число (мг КОН);

$a$  – количество 0,1 н. раствора КОН, затраченное на титрование;

$T$  – поправка к титру КОН;

*n* – навеска масла, взятая для анализа, г.

*II. Число омыления.* В чистой, сухой круглодонной колбе на аналитических весах взвесить около 1 г жира и прилить в нее из бюретки точно 25 мл 0,5 н. спиртового раствора едкого кали. Колбу соединить с обратным холодильником и кипятить на сильно кипящей водяной бане в течение 2 ч. Раствор в колбе периодически взбалтывать. Одновременно провести контрольное определение. Для этого в другую колбу вместо жира внести 2 мл воды, прилить 25 мл 0,5 н. КОН и кипятить на бане. Омыление считается законченным, когда жидкость в колбе станет прозрачной. После полного омыления на дне колбы не должно быть блестящих капелек масла. При омылении труднорастворяющихся веществ в колбу добавить примерно равный объем какого либо высококипящего растворителя - толуола, пропилового, бутилового или амилового спирта.

По окончании омыления в колбу добавить несколько капель индикатора фенолфталеина или тимолфталеина и титровать 0,5 н. раствором соляной кислоты до изменения окраски. Одновременно оттитровать содержимое контрольной колбы.

Число омыления вычисляют по формуле:

$$x = \frac{(a - b) \cdot T_1 \cdot 28,055 \cdot T_2}{n}$$

где *x* - число омыления;

*a* - количество 0,5 н. HCl, израсходованное на титрование контроля, мл;

*b* - количество 0,5 н. HCl, затраченное на титрование пробы, мл;

*T*<sub>1</sub> - поправка к титру HCl;

28,055 - 1/2 молекулярной массы КОН (56,11 : 2);

*T*<sub>2</sub> - поправка к титру КОН;

*n* - навеска жира, г.

Число омыления представляет функцию средней молекулярной массы жирных кислот. Повышенным числам омыления соответствует более низкая средняя молекулярная масса жирных кислот, а пониженным числам омыления, наоборот, - более высокая средняя молекулярная масса. Так, у кокосового масла среднее число омыления 250-260, а средняя молекулярная масса жирных кислот - около 240, у хлопкового масла число омыления 194-198, а молекулярная масса - около 282, у рапсового масла соответственно 172-175 и около 313.

*III. Число эфирности.* На основании определений числа омыления и кислотного числа можно вычислить и так называемое *число эфирности* - количество миллиграммов едкого кали, которое необходимо для нейтрализации освобождающихся при омылении жирных кислот в 1 г жира. Число эфирности вычисляют по разности между числом омыления и кислотным числом.

*IV. Количество глицерина.* По эфирному числу можно подсчитать примерное содержание глицерина в масле, учитывая, что доля отщепления одной молекулы глицерина необходимо три молекулы едкого кали. Количество глицерина вычисляют по формуле:

$$x = \frac{92,06a \cdot 100}{56,11 \cdot 3 \cdot 1000} ,$$

где  $x$  – количество глицерина, %;

92,06 – молекулярная масса глицерина;

56,11 – молекулярная масса едкого кали;

$a$  – эфирное число.

**Оформление работы.** Произвести соответствующие расчеты и сделать выводы.

**Материалы и оборудование:** водяные бани, колбы конические на 50-100 мл., круглодонные колбы с обратным холодильником, спирт, эфир, 0,1 н. КОН, фенолфталеин, тимолфталеин, растительное масло, 0,5 н. спиртовой раствор КОН, 0,5 н. HCl.

## РАБОТА 16

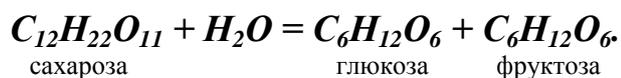
### Влияние температуры и реакции среды на активность инвертазы

Фермент *инвертаза* (сахараза) катализирует процесс гидролиза сахарозы до глюкозы и фруктозы. Этот фермент находится во всех растениях и в клетках дрожжей. Из дрожжей и извлекают фермент, который служит объектом изучения.

**Цель работы:** установить влияние температуры и реакции среды на активность инвертазы.

**Объект исследования:** дрожжи.

**Ход работы.** Взять 10 г свежих (или 5 г сухих) дрожжей и поместить их в ступку. Добавить кварцевого песка (или тертое стекло), 5 мл дистиллированной воды и тщательно растереть. Затем прилить еще 15 мл воды, нагретой до 60<sup>0</sup>С, и оставить на 30 мин, продолжая периодическое растирание. После этого раствор профильтровать в колбу Бунзена при помощи насоса Камовского (эту часть работы может выполнить дежурный или лаборант из расчета на группу). В полученной вытяжке будет находиться инвертаза, расщепляющая сахарозу на смесь гексоз по уравнению:



Затем взять 7 пробирок, снабдить их этикетками и налить по 0,5 мл фильтрата. Кроме этого:

в пробирку № 1 добавить 2 мл воды и поместить ее в снег (или лед);

в пробирку № 2 добавить 2 мл воды;

в пробирку № 3 добавить 2 мл воды и поставить в колбу с водой при температуре 40<sup>0</sup>С;

в пробирку № 4 добавить 2 мл воды и прокипятить;

в пробирку № 5 добавить 2 мл 0,1 н. соляной кислоты;

в пробирку № 6 добавить 0,2 мл 0,1 н. соляной кислоты и 1,8 мл воды;

в пробирку № 7 добавить 2 мл 0,1 н. едкого натрия.

После этого во все пробирки прилить из бюретки по 2 мл 10%-ного раствора сахарозы и перемешать, постукивая пробиркой по ладони. Пробирку № 1 оставить в снегу, пробирку № 3 – в воде с температурой 40°C, а остальные оставить в штативе.

По истечении 15 минут из бюретки прилить во все пробирки по 2 мл фелинговой жидкости и погрузить на 5-7 минут в кипящую водяную баню. Дать оценку количества образовавшегося осадка в баллах: 0 – нет; 1 – очень мало; 2 – мало; 3 – средне; 4 – много; 5 – очень много.

**Оформление работы.** Результаты опыта записать в таблицу 12 и сделать соответствующие выводы. После подсчета баллов начертить соответствующие графики.

**Таблица 12** – Количество закиси меди в баллах

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	2	7
Температура, °С	0	20	40	100	20	20	20	20
pH среды	7	7	7	7	3	5	7	9
Количество закиси меди								

**Материалы и оборудование:** дрожжи, 10%-ный раствор сахарозы, 0,1 н. раствор соляной кислоты, 0,1 н. раствор едкого натрия, дистиллированная вода, весы, разновесы, ступка с пестиком, бюретка с воронкой, колба Бунзена с пробкой и фарфоровой воронкой, насос Камовского, стеклянная палочка, штатив с пробирками, водяная баня, термометр, снег или лед, колбы на 100 мл, пипетки, бумажные фильтры.

## РАБОТА 17

### Определение общей кислотности в растении

Под *общей кислотностью* (общее содержание кислоты) понимают количество анионов и недиссоциированных молекул кислоты.

Величину общей кислотности можно определить титрованием с использованием соответствующих индикаторов.

Принцип метода основан на извлечении кислоты из измельченного растительного материала в результате нагревания с водой при температуре 80-90<sup>0</sup>С в течение 30 минут. Извлеченные кислоты оттитровывают раствором щелочи.

Общее количество кислот обычно пересчитывают на яблочную кислоту, т.к. она преобладает во многих плодах и овощах.

**Цель работы:** определить общую кислотность в растительном материале.

**Объект исследования:** плоды яблони домашней (*Malus domestica*).

**Ход работы.** Свежие плоды или овощи тщательно измельчить на терке или в ступке. Растительную массу перемешать, взять навеску 20 г и перенести без потерь в широкогорлую колбу на 200 мл. В колбу прилить около 150 мл дистиллированной воды и выдержать 30 мин в водяной бане при температуре 80-90<sup>0</sup>С.

Затем охладить колбу водопроводной водой, довести до метки и профильтровать в сухой стакан или колбу. Полученный фильтрат служит для определения общей кислотности. Взять 50 мл фильтрата, содержащего кислоты, перенести в коническую колбу на 100 мл. Добавить несколько капель спиртового раствора фенолфталеина и оттитровать из бюретки 0,1 н. раствором NaOH до розового окрашивания. Вместо фенолфталеина в качестве индикатора можно использовать спиртовой раствор тимолфталеина. В этом случае титровать до

появления синего окрашивания.

После этого вычислить количество кислот в растительном образце по формуле:

$$x = \frac{a \cdot T \cdot 200 \cdot 10}{n \cdot 50},$$

где  $x$  - количество кислот в растительном образце, мэкв;

$a$  - количество 0,1 н. NaOH, пошедшее на титрование, мл;

$T$  - поправка к титру щелочи;

200 - общий объем вытяжки, мл;

50 - объем вытяжки, взятый для титрования, мл;

$n$  - навеска материала, г;

10 - перевод в миллиэквиваленты кислоты (1 мл 0,1 н. NaOH соответствует 0,1 мэкв кислоты).

Часто содержание кислот выражают не миллиэквивалентах на 1 г, а в процентах.

Для этого число миллиэквивалентов умножить на массу 1 мэкв, кислоты (в граммах): 1 мэкв яблочной кислоты равен 67 мг (0,067 г), лимонной – 64 мг, винной – 75 мг, щавелевой 45 мг.

Обычно в зависимости от преобладания той или иной органической кислоты в изучаемом объекте для пересчета используют соответствующий коэффициент.

**Оформление работы.** Провести расчеты и сделать соответствующие выводы.

**Материалы и оборудование:** водяная баня, мерные колбы на 200 мл, колбы конические на 100-200 мл, воронки, пипетки, бюретки, фильтры, 0,1 н. раствор NaOH, фенолфталеин или тимолфталеин.

## РАБОТА 18

### Обнаружение дубильных веществ в растениях

К *дубильным* относят вещества, способные дубить невыделанную шкуру, превращая ее в кожу. Дубильные вещества при взаимодействии с каллогеном – белком кожных покровов, образуют устойчивую поперечно-связанную структуру, определяющую высокую прочность и устойчивость кожи к различным факторам.

Термин «*дубильные вещества*» используется в пищевой промышленности и в технической биохимии для обозначения низкомолекулярных соединений, обладающих вяжущим вкусом, но не способных к истинному дублению.

Физиологическое значение дубильных веществ связано с их участием в окислительно-восстановительных реакциях.

Характерной цветной реакцией на дубильные вещества является почернение их при обработке слабым раствором хлорного железа.

**Цель работы:** обнаружить дубильные вещества в растительном материале.

**Объект исследования:** дуб черешчатый (*Quercus robur*), чай.

**Ход работы.** Взять 0,25 г предварительно измельченной ножницами массы листьев или галл дуба, насыпать в пробирку и залить 5 мл воды, прокипятить в течение 5 минут. Несколько капель полученной вытяжки перенести в фарфоровую чашку и прибавить каплю хлорного железа. Почернение вытяжки подтвердит наличие дубильных веществ в листьях дуба.

В чистую пробирку налить на глаз 0,5 мл настоя чая и добавить 1-2 капли хлорного железа. Настой чая почернеет, что указывает на наличие дубильных веществ в вытяжке чая.

**Оформление работы.** Результаты наблюдений отметить в таблице 13 и сделать вывод.

**Таблица 13** - Наличие дубильных веществ у различных растений

Объект	Реакция на хлорное железо	Наличие дубильных веществ

**Материалы и оборудование:** 5%-ный раствор хлорного железа – FeCl<sub>3</sub>, листья и галлы дуба черешчатого, крепкий чай, фарфоровая чашка, пробирки, штатив, электроплитка, стеклянная палочка, скальпель цветные карандаши.

## РАБОТА 19

### Обнаружение алкалоидов в растениях

*Алкалоидами* называются ароматические азотсодержащие соединения щелочного характера, которые обладают сильными физиологическими действиями. Некоторые из *алкалоидов* в малых дозах применяются в медицине для лечения различных заболеваний человека и животных или используются в качестве тонизирующих (чай, кофе, какао) и наркотических веществ. Многие *алкалоиды* обладают высокой токсичностью, поэтому, содержащие их растения нельзя использовать на корм (люпин, вика, полынь и другие). Иногда *алкалоиды* используются как средства борьбы с вредителями сельскохозяйственных растений.

Для алкалоидов характерна цветная реакция с йодом в йодистом калии. Красновато-бурая окраска от йода указывает на наличие алкалоидов в данном растительном материале.

**Цель работы:** обнаружить алкалоиды в растительном материале.

**Объект исследования:** люпин синий (*Lupinus angustifolius*), белена черная (*Hyoscyamus niger*).

**Ход работы.** Взять и разрезать 2-3 семени люпина. Нанести на срезы 1-2 капли йода в йодистом калии. Появление красновато-бурой окраски на разрезе указывает на наличие алкалоидов в семени.

Из кусочков листа белены стеклянной палочкой выжать на фарфоровой чашечке каплю сока (или размять в кашу) и добавить каплю (к каше несколько капель) йода в йодистом калии. Появление красновато-бурого осадка указывает на наличие в соке листа белены алкалоидов.

**Оформление работы.** Результаты занести в таблицу 14 и сделать соответствующие выводы.

**Таблица 14 - Наличие алкалоидов в растительном материале**

Объект	Интенсивность окраски	Наличие алкалоидов

**Материалы и оборудование:** раствор йода в йодистом калии, семена люпина синего, листья белены черной, скальпель, стеклянная палочка, ножницы, фарфоровая чашечка, цветные карандаши.

### ***Вопросы для самоконтроля***

1. Что такое углеводы и как они классифицируются?
2. В результате какого процесса в растении образуются углеводы?
3. Как классифицируются моносахариды в зависимости от числа углеродных атомов?
4. Какими свойствами обладают моносахариды и полисахариды?
5. Для каких процессов используются углеводы в растительном организме?
6. Что такое редуцирующие сахара? Назовите характерную реакцию на редуцирующие сахара.
7. Почему крахмал наиболее удобная форма запасного углевода?
8. Какие ферменты участвуют в гидролизе крахмала до глюкозы?

9. Как называются моносахариды, строение которых отличается по взаимному расположению гидроксила и атома водорода относительно только одного определенного атома углерода?
10. Какие вещества образуются при восстановлении моносахаридов?
11. Какие функции выполняют в растительном организме полисахариды?
12. Назовите наиболее распространенные моносахариды, олигосахариды и полисахариды?
13. Основные производные моносахаридов и их значение для растений, человека и животных?
14. Из остатков каких моносахаридов состоит крахмал и целлюлоза?
15. Что такое и для чего нужны растению пектиновые вещества?
16. Что такое липиды?
17. Какие жирные кислоты называются насыщенными, а какие ненасыщенными?
18. Что такое прогаркание и высыхание липидов?
19. Что показывает кислотное число жира?
20. Что такое число омыления жира?
21. Что такое йодное число?
22. В чем суть метода определения йодного числа жира? О чем свидетельствует низкое значение йодного числа жира?
23. Как изменяются йодное и кислотное число жиров в процессе их хранения?
24. Что такое число эфирности жира?
25. Что такое перекисное число жира?
26. Как называются липиды соединенные с белками?
27. Природные жирные кислоты с длинной углеводородной цепью практически нерастворимы в воде, как называются их натриевые или калиевые соли?
28. Каких жирных кислот в большем количестве содержится в растительных маслах?
29. Назовите хорошо высыхающие масла?
30. Назовите невысыхающие масла?
31. Что такое белки? Из чего они состоят?
32. Как классифицируются аминокислоты?
33. Что такое изоэлектрическая точка белка (аминокислоты)?

- 34.Классификация белков?
- 35.Какие вы знаете структуры белка? Чем они отличаются друг от друга?
- 36.Что такое денатурация белка? Какой она бывает?
- 37.Назовите функции белков?
- 38.Что такое высаливание белка? Что при этом происходит с белковой молекулой?
- 39.На чем основана биуретовая реакция?
- 40.На чем основана ксантопротеиновая реакция?
- 41.На чем основана Миллонова реакция?
- 42.Понятие о незаменимых аминокислотах?
- 43.Какую роль играют белки в обмене веществ растения?
- 44.Какое фундаментальное различие существует между нуклеиновыми кислотами и белками, с одной стороны, и полисахаридами и липидами с другой?
- 45.Как называются белки, не содержащие некоторых аминокислот?
- 46.Что служит важным показателем качества белков?
- 47.Чем определяется ценность белка?
- 48.Изучение состава белков кормовых трав и кукурузы показало, что большая их часть представлена легкорастворимыми фракциями белков, какими?
- 49.Что используют для экстракции белков из тканей растений?
- 50.Какой самый распространенный метод определения молекулярной массы белков?
- 51.Назовите методы определения аминокислотного состава белков?
- 52.Назовите три аминокислоты, содержащих серу?
- 53.Имеются ли спирторастворимые фракции белков в кормовых травах?
- 54.Что такое витамины?
- 55.Как классифицируются витамины?
- 56.Какое заболевание у животных и человека вызывает недостаток витаминов, а какое – избыток?
- 57.Биологическая роль и содержание витаминов в растительных продуктах.
- 58.В чем заключается механизм действия различных антивитаминов?
- 59.Как изменяется содержание витаминов в онтогенезе растений и под влиянием внешних условий?

60. Все витамины обладают значительной термостабильностью. Назовите витамин, который при нагревании в присутствии кислорода разрушается?
61. Какой витамин играет важную роль в азотном обмене?
62. Объясните понятие - ферменты. Чем они являются по химической природе?
63. Что такое энергия активации?
64. Как классифицируются ферменты?
65. На чем основан принцип действия ферментов?
66. Что такое активный центр фермента? Что такое субстрат?
67. Что такое стандартная единица фермента?
68. Что такое активность фермента: удельная активность и молекулярная активность?
69. Что такое число оборотов фермента?
70. Влияние условий на работу ферментов?
71. Активаторы и ингибиторы ферментов?
72. Специфичность действия ферментов?
73. Локализация ферментов в клетке?
74. Мультиферментные системы?
75. На чем основано определение дегидрогеназ?
76. Что такое вещества вторичного происхождения?
77. Какую роль вещества вторичного происхождения играют в жизни растений? В жизни человека?
78. На какие группы делят вещества вторичного происхождения?
79. Чем по химической природе являются алкалоиды?
80. Какое биологическое значение имеют дубильные вещества?
81. Какое биологическое значение имеют алкалоиды и гликозиды?
82. Какое биологическое значение имеют органические кислоты и антибиотики?
83. Что такое общая кислотность?
84. Как классифицируются алкалоиды?
85. Каким образом зависит содержание алкалоидов и гликозидов в растениях от климата, погоды, удобрений и др. условий?

### III. ВОДНЫЙ РЕЖИМ РАСТЕНИЙ

Вода является основной составной частью растительного организма. Ее содержание достигает 90 % от массы организма, и она участвует прямо или косвенно во всех жизненных проявлениях.

Вода выполняет следующие основные функции:

1. Водная среда объединяет все части организма в единое целое.  
2. Вода является средой для прохождения биохимических реакций. Она является средой, в которой протекают все процессы обмена веществ.

3. Вода входит в состав молекул белков, определяя их конформацию.

4. Вода - непосредственный участник многих биохимических процессов. Например, при фотосинтезе она является донором электронов, а при дыхании – принимает участие в окислительных процессах и является одним из конечных продуктов.

5. Вода является главным компонентом транспортной системы высших растений.

6. Вода способствует защите растительных тканей от колебаний температуры. Она способствует охлаждению растений и предохраняет их от перегрева.

7. Высокое содержание воды придает содержимому клетки подвижный характер.

8. Вода обеспечивает упругое состояние клеток и тканей растений.

9. Вода является хорошим амортизатором при механических воздействиях на организм.

Растения непрерывно поглощают воду из окружающей среды. Вода поступает в растение в результате *корневого давления* и действия *транспирации*.

Часть поглощенной воды растения испаряют. Испарение воды растением называется *транспирацией*. Транспирация – это физиологический процесс перехода воды из жидкого в парообразное состояние, происходящий при соприкосновении органов растения с ненасыщенной водой атмосферой.

Значение транспирации для растительных организмов заключается в следующем:

1. Она спасает растение от перегрева в жаркую солнечную погоду;
2. Она способствует созданию непрерывного тока воды из корневой системы к листьям.
3. С транспирационным током передвигаются растворимые минеральные и частично органические питательные вещества.

Одним из показателей, характеризующим процесс транспирации, является ее интенсивность.

*Интенсивность транспирации*, т.е. испарение определенного количества воды надземными частями растений за конкретный промежуток времени, зависит от размера раскрытых устьиц, от разности потенциалов воздуха внутри и снаружи листа, от турбулентности воздуха.

При этом растения имеют ряд приспособлений и анатомических особенностей, способствующих снижению транспирации: кутикулу, восковой налет, покровные волоски.

Основную роль в регуляции испарения воды растением играют *устьица*. Они обладают способностью открываться и закрываться, поэтому интенсивность транспирации зависит от степени их открытости. Обычно устьичные отверстия ограничены двумя замыкающими клетками, стенки которых неравномерно утолщены (рис 7).

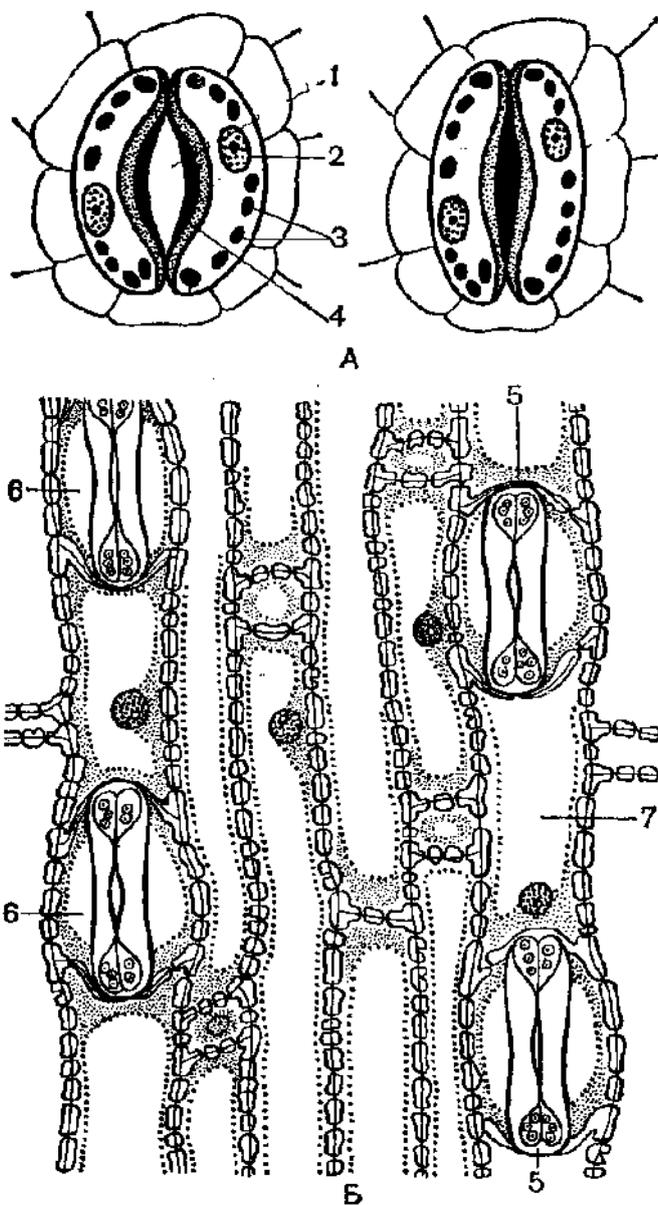
Число устьиц очень сильно колеблется в зависимости от вида растения (от 1 до 60 тыс. на 1 см<sup>2</sup> листа). Например, на одном расте-

нии кукурузы насчитывается около 104100000 устьиц. При этом основная часть устьиц находится на нижней стороне листе.

Различают *устьичную* и *кутикулярную* транспирацию. Обычно кутикулярная транспирация составляет около 10% от общей потери воды листом. Основная же часть воды испаряется посредством устьичной транспирации.

Чтобы возместить потери воды при испарении, в растение должно поступать большое ее количество. Непрерывно идущие в растении два процесса – поступление и испарение воды – называют водным балансом растений. Для бездефицитного водного баланса необходимо, чтобы расходование влаги листьями компенсировалось ее поглощением через корни.

Поглощенная клетками корня вода движется радиально через корень как по *апопласту*, так и по *симпласту* до сосудов ксилемы. По ксилеме транспорт воды осуществляется с помощью корневого давления



1 – устьичная щель; 2 – ядро; 3 – хлоропласты; 4 – толстая клеточная стенка; 5 – замыкающие клетки устьиц; 6 – побочные клетки; 7 – клетки эпидермиса

**Рисунок 7. Структура устьиц у двудольных (А) и однодольных (Б) растений**

(нижний концевой двигатель) и транспирации (верхний концевой двигатель). Движущей силой восходящего тока воды по ксилеме является градиент водного потенциала через растение от почвы до атмосферы.

В клетках и тканях различают две формы воды – *свободную* и *связанную*. *Связанная* вода подразделяется на:

а) связанную осмотически (гидратирует растворенные вещества – ионы, молекулы);

б) коллоидно связанную, которая включает интрамицеллярную воду, находящуюся внутри коллоидной системы (в том числе и иммобилизованную воду), и интермицеллярную воду (находится на поверхности коллоидов и между ними);

в) капиллярно связанную (находится в клеточных стенках и сосудах проводящей системы).

*Свободная* вода обладает достаточной подвижностью.

Недостаток влаги в растениях действует на следующие процессы: поглощение воды, корневое давление, прорастание семян, устьичные движения, транспирация, фотосинтез, дыхание, рост и развитие, ферментативная активность растений, концентрация минеральных веществ и др., в итоге снижается продуктивность растений.

При дефиците воды растение *завядает*. *Завядание* не означает, что растение погибло. Если своевременно обеспечить растение водой, то тургор восстанавливается, жизнедеятельность организма продолжается, однако при этом наблюдаются повреждения. Различают два типа *завядания*: *временное* и *глубокое*.

*Временное завядание* наблюдается в условиях атмосферной засухи, при этом в почве имеется доступная вода. В таких условиях возрастает интенсивность транспирации и поступление воды не поспевает за ее расходом. При этом завядают в основном листья (теряется тургор). При потере тургора устьица закрываются, как

следствие, фотосинтез резко замедляется, растение тратит органическое вещество. Не смотря на все это, временное завядание сравнительно легко переносится растением.

*Глубокое завядание* наступает в условиях, когда в почве отсутствует доступная для растений влага. Транспирация вызывает все возрастающий водный дефицит, при котором происходит общее иссушение всего растительного организма. Последствия такого завядания могут быть необратимыми и губительными для растений.

В результате снижается содержание свободной воды в клетках и возрастает концентрация клеточного сока. Клетки теряют способность к поглощению питательных веществ. Увеличивается скорость распада РНК, белков, меняется конфигурация белков-ферментов и теряется активность ферментов, катализирующих процессы синтеза, а активность ферментов, катализирующих процессы распада, напротив – возрастает. Водный дефицит снижает интенсивность фотосинтеза, тормозится отток продуктов фотосинтеза из листьев в другие органы. Листья и корни выделяют большое количество солей. Возрастает проницаемость мембран и количество небелковых азотсодержащих соединений, их отток в стебель и колос. Прекращается репликация ДНК, а, следовательно, деление клеток. Энергия дыхания не может быть использована растением, т. к. она выделяется в виде тепла, а не в виде АТФ. Рост растений останавливается.

Переизбыток воды также отрицательно сказывается на растительных организмах. Прежде всего, наблюдается ухудшение аэрации почвы, что приводит к прекращению аэробных и усилению анаэробных процессов. Уменьшается интенсивность дыхания корней. В результате этого поступление питательных веществ в клетки корня резко тормозится. При избыточном увлажнении наблюдается явление полегания хлебов. Так же при избыточном увлажнении происходит засоление почвы.

По отношению к воде все растения делятся на три экологические группы:

- *гигрофиты* – водные растения, которые погружены в воду целиком или частично, а также растения увлажненных местообитаний;

- *мезофиты* – растения, обитающие в среде со средним уровнем обеспеченности водой; при этом они не имеют приспособлений к избытку или недостатку воды;

- *ксерофиты* – растения, обитающие в среде с резким недостатком воды. Растения этой группы обладают приспособлениями к перерывам в водоснабжении (избегают засуху, запасают воду, переносят засуху в состоянии анабиоза и др.).

Существуют различные показатели для определения доступной растению почвенной влаги. *Полевая влагоемкость* – максимальное количество запасов почвенной влаги, который может быть использован растением. Показателем минимального размера почвенной влаги, который может быть использован растением, служит *влажность устойчивого завядания*. Под *доступной для растений почвенной влагой* понимается количество воды, которое накапливается в почве от уровня влажности устойчивого завядания до полевой влагоемкости.

## **РАБОТА20**

### **Определение водного потенциала листьев**

#### **методом Шардакова**

Поступление воды в клетку определяется величиной сосущей силы (водного потенциала –  $\psi_{H_2O}$ ), зависящей от осмотического давления ( $\psi_{\pi}$ ) вакуолярного сока и тургорного (гидростатического) давления ( $\psi_p$ ) клеточного содержимого.

*Водный потенциал*  $\psi$  – это сила, с которой растительная ткань насасывает воду. Его определяют для того, чтобы уловить начальные признаки обезвоживания растений и своевременно провести полив. Водный потенциал служит мерой энергии молекул воды и выражается в тех же единицах, что и давление. Вода всегда движется в направлении от более высокого потенциала к более низкому. Растворы обладают потенциалом  $\psi_{\pi}$ , это компонент водного потенциала, который определяется присутствием молекул растворенного вещества и который снижает энергию молекул воды. Поскольку  $\psi$  чистой воды равен нулю, поэтому водный потенциал любого раствора и биологических жидкостей имеет отрицательное значение.

Метод основан на подборе раствора, концентрация которого не изменяется при погружении в него растительной ткани. В этом случае величина водного потенциала равна осмотическому потенциалу. Водный потенциал показывает способность воды в системе совершить работу по сравнению с той, которую произвела бы при прочих равных условиях чистая вода, имеющая активность, равную 1. Иначе его можно определить как работу, необходимую для того, чтобы поднять потенциал связанной воды до потенциала чистой, т.е. свободной воды.

Суммарный водный потенциал является наиболее удобным показателем для экологических исследований, где необходима характеристика состояния воды во всех частях системы почва – растение – атмосфера.

Чем ниже водный потенциал системы, тем с большей силой она поглощает воду.

**Цель работы:** знакомство с методом определения водного потенциала листьев растений, находящихся в разных условиях водоснабжения, разных органов одного растения.

**Объект исследования:** листья капусты (*Brassica oleracea*).

**Ход работы.** Пробирки расставляют в штатив в два ряда по пять штук. В первом ряду готовят по 10 мл 0,1 М; 0,2 М; 0,3 М; 0,4 М и 0,5 М растворов хлористого натрия путем разбавления 1 М раствора дистиллированной водой. Из пробирок первого ряда переносят по 0,5 мл раствора в пробирки второго ряда и закрывают их пробками. Из листа между крупных жилок сверлом вырезают 10 дисков. В каждую пробирку второго ряда опускают по два диска. Через 40 мин стеклянной палочкой удаляют диски, а растворы в пробирках второго ряда подкрашивают метиленовой синькой, взятой в небольшом количестве (на кончике проволоки). Много краски добавлять нельзя, так как это может вызвать увеличение концентрации раствора. Подкрашенный раствор набирают пипеткой, конец пипетки опускают в соответствующий исходный раствор в пробирке первого ряда, так чтобы уровень жидкости в пипетке несколько превышал уровень раствора в пробирке. Медленно выпускают жидкость из пипетки, отмечая направление движения струйки. Если концентрация, а следовательно и плотность окрашенного раствора увеличились, то струйка в исходном растворе пойдет вниз, если концентрация уменьшилась – струйка пойдет вверх. При равенстве концентраций (изотоническая) струйка равномерно распределится в исходном растворе.

Величину водного потенциала рассчитывают по уравнению Вант-Гоффа:

$$P = - RTCi \cdot 101,3 \text{ кПа,}$$

где  $P$  – осмотическое давление, атм.;

$R$  – универсальная газовая постоянная (0,0821 л атм/град\*моль);

$T$  – абсолютная температура (273 °С+t комнатная);

$C$  – концентрация раствора в молях;

$i$  – изотонический коэффициент;

101,3 – коэффициент перевода атмосфер в кПа.

**Оформление работы.** Результаты опыта занести в таблицу 15.

Сделать соответствующие выводы.

**Таблица 15** – Водный потенциал листьев в разных условиях водоснабжения

Концентрация растворов, М	На 10 мл раствора		Направление движения струйки	Изотоническая концентрация	Водный потенциал, кПа
	NaCl, мл	H <sub>2</sub> O, мл			
0,1	1	9			
0,2	2	8			
0,3	3	7			
0,4	4	6			
0,5	5	5			

**Материалы и оборудование:** пробирки, штатив, пипетки, сверла диаметром 0,9 см, пробки для пробирок, пинцеты, стеклянные палочки, листья растений (капуста), 1 М раствор хлористого натрия, метиленовая синяя.

## РАБОТА 21

### Определение интенсивности транспирации весовым методом

*Транспирация* – процесс испарения воды надземными частями растений. *Интенсивность транспирации* – это количество воды, испаренной в единицу времени единицей листовой поверхности. *Относительная транспирация* – отношение интенсивности транспирации к интенсивности испарения со свободной водной поверхности при тех же условиях (этот показатель характеризует способность растений регулировать транспирацию и выражается в процентах или в виде десятичной дроби).

Метод основан на учете изменений в весе транспирирующего листа за короткие промежутки времени, что дает возможность наблюдать транспирацию при том состоянии насыщенности листа водой, в каком он находился на растении.

Интервал между взвешиваниями не должен превышать 5 минут, т.к. при более длительной экспозиции уменьшается содержание воды в листе и интенсивность транспирации снижается.

**Цель работы:** определить интенсивность транспирации и относительную активность воды.

**Объект исследования:** листья традесканции (*Tradescantia virginica*).

**Ход работы.** Установить торсионные весы в вертикальном положении и проверить их нулевую точку. Срезать лист и взвесить. Через несколько минут (не более 5 минут) взвесить второй раз.

Для определения поверхности листа взвесить квадрат миллиметровой бумаги известной площади (например, 100 см<sup>2</sup>), наложить на этот квадрат исследуемый лист, обвести карандашом, вырезать и взвесить полученную бумажную фигуру. Площадь листа вычислить по пропорции:

$$\frac{a}{b} = \frac{c}{s}$$

где  $a$  – масса квадрата;

$b$  – масса бумажной фигуры;

$c$  – площадь квадрата;

$s$  – площадь листа.

Интенсивность транспирации ( $I_m$ ) вычислить по формуле:

$$I_m = \frac{n \cdot 60 \cdot 10000}{s \cdot t} \text{ г/см}^2 \cdot \text{ч},$$

где  $n$  – количество воды, испаренной листом за время опыта, г;

$s$  – площадь листа, см<sup>2</sup>;

$t$  – продолжительность опыта, мин;

60 – коэффициент перевода минут в часы;

10000 – коэффициент перевода см<sup>2</sup> в м<sup>2</sup>.

Чтобы убедиться в том, что транспирация не является простым физическим процессом, необходимо определить интенсивность свободного испарения ( $I_3$ ). Для этого взвесить чашку Петри, наполненную водой (наружная часть чашки должна быть сухой), взвесить и повторить взвешивание через 30 минут. Определить испаряющую поверхность, измерив внутренний диаметр чашки линейкой.

Интенсивность свободного испарения вычислить по той же формуле, что и интенсивность транспирации.

Относительная транспирация равна:  $O_m = I_m / I_3$ .

**Оформление работы.** На основании величины относительной транспирации (относительная активность воды) сделать вывод о регуляции листом процесса транспирации ( $I_m / I_3$  меньше 0,5 считается низкой). Результаты записать в таблицу 16, сделать выводы.

**Таблица 16** – Активность воды листа комнатного растения

Объект	Время		Продол. опыта, мин	Масса, г		Убыль в массе, г	Пло- щадь, см	Относи- тельная актив- ность воды
	начало опыта	конец опыта		1	2			
Лист								
Сосуд с водой								

**Материалы и оборудование:** листья комнатного растения (традесканция), торсионные весы, часы, миллиметровая бумага, ножницы, карандаш, чашка Петри.

## РАБОТА 22

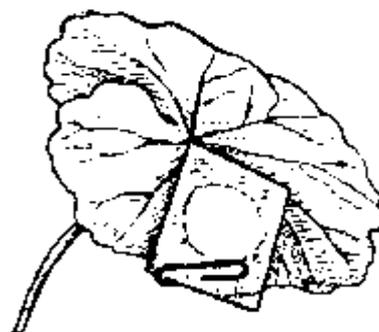
### Сравнение транспирации верхней и нижней сторон листа хлоркобальтовым методом (по Шталю)

Метод хлоркобальтовой пробы основан на изменении цвета фильтровальной бумаги, пропитанной хлористым кобальтом, при поглощении ею паров воды, испаряемых поверхностью листа. По времени, необходимому для перехода окраски кобальтовой бумажки из голубой (цвет сухого  $\text{CoCl}_2$ ) в розовую (цвет  $\text{CoCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), можно приблизительно судить об интенсивности транспирации растений.

**Цель работы:** определить количество устьиц на верхней и нижней стороне листа однолетних листьев растений.

**Объект исследования:** растения примулы (*Primula malacoides*), традесканции (*Tradescantia viridis*), гортензии (*Hydrangea hortensis*).

**Ход работы.** Просушенную хлоркобальтовую бумагу приложить к верхней и нижней сторонам листа (свежесорванного или непосредственно на растении). Чтобы избежать действия атмосферной влаги, осторожно зажать лист вместе с наложенной на него бумагой между двумя стеклянными пластинками и укрепить канцелярской скрепкой (рис. 8). Отметить, через сколько минут порозовеет бумажка на верхней и нижней сторонах листа. По скорости порозовения определить, с какой стороны листа испарение идет быстрее.



**Рисунок 8. Определение транспирации хлоркобальтовым методом**

Сделать срезы верхнего и нижнего эпидермиса листа, рассмотреть под микроскопом и подсчитать количество устьиц в поле зрения.

**Оформление работы.** Результаты опыта записать в таблицу 17. Сделать выводы о причинах различной интенсивности транспирации верхней и нижней сторон листа данного растения.

**Таблица 17** – Число устьиц на верхней и нижней стороне листа

Стороны листа	Время наблюдения		Время порозовения бу- маги, мин	Число устьиц в поле зрения микроскопа
	начало опыта	конец опыта		
Верхняя				
Нижняя				

**Материалы и оборудование:** листья растений, хлоркобальтовая бумага, канцелярские скрепки, часы, микроскоп, предметные и покровные стекла, пинцет, капельница с водой, лезвие бритвы, стеклянные пластинки.

## РАБОТА 23

### Определение состояния устьиц методом инфильтрации (по Молишу)

Межклетники листа обычно заполнены воздухом, благодаря чему при рассматривании на свет лист кажется матовым. Если произойдет *инфильтрация*, т.е. заполнение межклетников какой-либо жидкостью, то соответствующие участки листа становятся прозрачными.

Определение состояния устьиц методом инфильтрации основано на способности жидкостей, смачивающих клеточные стенки, проникать через открытые устьичные щели в ближайшие межклетники, вытесняя из них воздух. В результате соответствующие участки становятся прозрачными. В межклетники относительно легко проникает ксилол, труднее – бензол и еще труднее – спирт. Это связано с тем, что эти жидкости обладают различной вязкостью.

Степень раскрытия устьиц может служить физиологическим показателем для определения обеспеченности растений водой и установления сроков полива.

**Цель работы:** установить степень раскрытия устьиц в зависимости от инфильтрации различных органических растворителей.

**Объект исследования:** листья герани (*Pelargonium zonale*).

**Ход работы.** На нижние стороны листьев растений, произрастающих при различной водообеспеченности, наносят последовательно спирт, бензол и ксилол в отдельные места. Листья выдерживают в горизонтальном положении до полного исчезновения капель, которые могут либо испариться, либо проникнуть внутрь листа. Затем рассмотреть его в проходящем свете. Появление на листе прозрачных пятен указывает на проникновение данной жидкости в межклетники.

**Оформление работы.** Результаты записать в таблицу 18, отмечая проникновение жидкости знаком «+», а отсутствие проникновения знаком «-», сделать вывод.

**Таблица 18 – Степень раскрытия устьиц листьев растений**

Условия опыта	Проникновение жидкости			Степень раскрытия устьиц
	спирт	бензол	ксилол	

**Материалы и оборудование:** листья растений, капельница, спирт, бензол, ксилол.

## РАБОТА 24

### Зависимость набухания семян от характера запасных питательных веществ

При соприкосновении с влажным субстратом сухие семена быстро поглощают воду и увеличиваются в объёме благодаря набуханию белков, крахмала и других гидрофильных коллоидов, причём у некоторых семян возникает большое давление (до 100 МПа). В основе набухания лежит гидратация коллоидов взаимодействием веществ с водой, приводящее к уменьшению её подвижности. Главную роль в процессе набухания семян играют белки - наиболее гидрофильные вещества. Гидратация белков включает три процесса:

- электронейтральную гидратацию путём образования водородных связей между атомами O и N полярных групп (карбоксильной, спиртовой, аминной, амидной и др.) и водородом воды (наиболее важный процесс, приводящий к значительному увеличению объёма и повышению температуры);
- ионную гидратацию - притяжение диполей воды ионизированными группами белка – COO<sup>-</sup> и NH<sub>3</sub><sup>+</sup>;
- иммобилизацию молекул воды, попадающих в замкнутые полости белковых глобул. Набухание белков имеет большое значение для биохимической активности клетки.

**Цель работы:** сравнить процесс набухания семян, отличающихся разным содержанием основных запасных веществ.

**Объект исследования:** семена пшеницы (*Triticum durum*), гороха (*Pisum sativum*), подсолнечника (*Helianthus annuus*).

**Ход работы.** Поместить в чашки Петри навески (2-5 г.) анализируемых семян и залить их водопроводной водой, обратив внимание на полное смачивание семян. Через сутки извлечь семена из чашек, быстро обсушить фильтровальной бумагой и взвесить.

**Оформление работы.** Увеличение массы семян выразить в процентах. Результаты записать в таблицу 19, сделать вывод.

**Таблица 19 – Набухание семян в зависимости от содержания питательных веществ**

Объект, семена	Масса семян, г.		Увеличение массы семян	
	исходная	после набухания	г.	% от исходной
Пшеница				
Горох				
Подсолнечник				

**Материалы и оборудование:** семена пшеницы, гороха, подсолнечника, весы технические с разновесами, чашки Петри, фильтровальная бумага.

## РАБОТА 25

## **Влияние концентрации раствора на прорастание семян**

Одним из факторов, влияющих на поступление воды в растение, является концентрация солей в почве, точнее разность между осмотическим давлением клеточного сока и почвенного раствора. Осмотическое давление клеточного сока у молодых проростков не превышает 10 атм.

**Цель работы:** изучить влияние различной концентрации ионов на прорастание семян.

**Объект исследований:** семена пшеницы (*Triticum durum*), гороха (*Pisum sativum*) и ячменя (*Hordeum vulgare*).

**Ход работы.** Насыпать в 4 чашки Петри по 50 г песка и смочить его 10 мл 1 М; 0,1 М; 0,01 М раствора хлористого натрия, а в последнюю чашку 10 мл воды. Отобрать по 50 штук здоровых семян и разложить равномерно по поверхности песка, накрыть крышками и поставить в теплое место.

Через 7 дней в каждой чашке подсчитать количество проросших семян, измерить у 10 проростков длину надземных частей и корешка (при наличии нескольких корешков брать самый длинный и найти среднее арифметическое). Вычислить осмотическое давление каждого раствора.

**Оформление работы.** Результаты исследований записать в тетрадь. Сделать вывод о причинах различного прорастания семян в растворах разной концентрации.

**Материалы и оборудование:** семена пшеницы, 1М раствор хлористого натрия, пинцет, чашки Петри, песок, бумага, миллиметровая бумага.

## ***Вопросы и задачи для самоконтроля***

1. Из чего складывается водный режим растений?
2. Какие физиологические показатели могут быть использованы для оптимизации водного режима растений?
3. Что такое водный дефицит?
4. Совпадает ли количество поглощенной воды с количеством воды испаренной и, если нет, то как это объяснить?
5. Как сочетает растение необходимость сберечь воду с другими потребностями?
6. Как происходит поглощение и выделение воды клеткой?
7. Какие изменения наблюдаются у растений при адаптации к дефициту воды?
8. Объясните, почему вода поднимается к вершинам высоких деревьев, тогда как механическим всасывающим насосом ее можно поднять не более чем на 10 м. Какие условия необходимы для такого подъема?
9. Как объяснить завядание листьев в жаркий летний день при достаточном количестве влаги в почве и ликвидацию водного дефицита ночью?
10. Почему испарение воды растением называется транспирацией?
11. Какое физиологическое значение имеет транспирация?
12. Каким образом низкий водный потенциал атмосферы обуславливает движение воды в системе почва-растение-атмосфера?
13. Какое физиологическое значение воды в регуляции роста и развития растений?
14. Что обуславливает поглощение воды корнями: а) при интенсивной транспирации; б) при слабой транспирации. Каков наиболее вероятный путь передвижения воды из почвы в клетку? Зависит ли поглощение воды корнями в двух указанных выше случаях от какой-нибудь структурной особенности корня? Поясните свой ответ.
15. Почему: а) ветер усиливает транспирацию?; б) опушенность листьев уменьшает их нагревание на солнечном свету?
16. Проследите путь молекулы воды от капли дождя, упавшей на почву, до водяного пара, поступившего в воздух из транспирирующего листа растения в растительном сообществе. Опишите соответствующие процессы и укажите, какие физические силы управляют ими на каждой стадии.

17. Перечислить показатели транспирации.
18. В чём сущность закона Стефана?
19. Что такое экономичность транспирации?
20. Что такое антитранспиранты и механизм их действия?
21. Какова особенность водного обмена у растений различных экологических групп?
22. Транспирационный коэффициент равен 125 мл/г. Найти продуктивность транспирации.
23. Продуктивность транспирации равна 4 г/л. Найти транспирационный коэффициент.
24. Сколько воды испарит сеянец за 5 мин., если интенсивность транспирации его 20 г/м<sup>2</sup> ч, площадь листьев 240 см<sup>2</sup>?
25. Некоторые бактерии вызывают завядание заражённых растений в условиях, при которых здоровые растения остаются тургесцентными. Каковы возможные механизмы такого воздействия?
26. Иногда, чтобы определить интенсивность транспирации, на поверхность листа помещают бумагу, пропитанную раствором хлористого кобальта. В высушенном состоянии такая бумага имеет голубой цвет, а во влажном - розовый. По скорости порозовения бумаги судят об интенсивности транспирации. Каковы ошибки этого метода?
27. У растения, корни которого погружены в чистую воду, при добавлении к ней соли может наблюдаться временное завязание, однако через несколько часов его тургесцентность, вероятно, восстановится. Объясните это явление?
28. Два одинаковых сосуда наполнены почвой: в одном сосуде песчаная, в другом глинистая. Почва в обоих сосудах полита до полного насыщения (содержание воды соответствует полной влагоёмкости почвы). В каком сосуде больше: а) общее содержание воды; б) количество доступной для растворения воды; в) мёртвый запас воды? Как это объяснить?
29. Как объяснить, что при общей небольшой площади устьичных отверстий (не более 1% от площади листьев) интенсивность транспирации при благоприятных условиях водоснабжения приближается к интенсивности эвапорации (испарение со свободной водной поверхности)?

30. На нижнюю поверхность листьев лещины в разные часы ясного летнего дня наносили капли ксилола, бензола и этилового спирта. При этом наблюдалось следующее: в 5 ч утра указанные жидкости не оставили на листе никакого следа, в 7 ч получились пятна от ксилола и бензола, в 9 ч пятна дали все три жидкости, а в 13 ч пятен на листе не оказалось. Как объяснить эти результаты?
31. Растение посажено в почву, почвенный раствор которой, имеет осмотическое давление 0,3 МПа. В момент посадки осмотическое давление клеточного сока корневых волосков 1 МПа, а тургорное давление 0,8 МПа. Сможет ли это растение жить на данной почве? Объясните.
32. Всегда ли растение может взять доступную воду?
33. Клетка погружена в раствор. Осмотическое давление клеточного сока 1 МПа, наружного раствора 0,7 МПа. Куда пойдет вода? (Разберите возможные случаи).
34. Как объяснить, при общей небольшой площади устьичных отверстий интенсивность транспирации при благоприятных условиях водоснабжения приближается к интенсивности испарения со свободной водной поверхности?
35. Как происходит набухание семян?
36. Какова зависимость этого процесса от содержания основных запасных веществ?
37. В какой форме находится вода в клетке?
38. Как объяснить набухание в воде маслянистых семян, несмотря на то, что жиры обладают гидрофобными свойствами?
39. Можно ли отнести к ростовым явлениям: а) набухание семян в воде; б) набухание почек перед их распусканием? Объясните.
40. В сухих семенах клешевины нет крахмала, а в проростках выращенных в темноте это вещество содержится в значительных количествах. Каково происхождение этого крахмала.
41. Какие запасные вещества встречаются в растениях?
42. Что такое жиры?
43. В чём заключается преимущество жира перед углеводами как запасных питательных веществ?
44. Почему не прорастают семена некоторых растений при наличии всех не-

- обходимых для этого условий (влага, тепло, доступ кислорода)?
45. Укажите, какими путями недостаток воды может влиять на рост побегов, Что поражается в каждом случае? Какой эффект сохраняется, даже если растение получит впоследствии достаточно воды? Почему?
46. Как вырастить растение без почвы? Какие условия необходимо при этом соблюдать?
47. Фермеры редко удобряют посевы во время засухи, поскольку они на опыте убедились в том, что это может принести вред. Объясните, почему?
48. Профессор Л.А. Иванов проделал следующий опыт: в начале зимы с побегов бузины (без отделения их от дерева) осторожным соскабливанием был удалён слой пробки. Находящиеся на этом побеге почки к концу зимы погибли. Часть обнажённых от пробки мест была обернута фольгой, и почки на них остались живыми. Благополучно перезимовали и почки на неповреждённых побегах. Как объяснить результаты этого опыта?
49. Как объяснить «плач» берёзы при поражении ствола ранней весной и отсутствие этого явления в летнее время?
50. Корни одинаковых растений погружены в сосуды с растворами безвредных солей. Осмотическое давление растворов 0,1; 0,3; 0,5 и 0,7 МПа. Как будет происходить поглощение воды растениями, если осмотическое давление клеточного сока корневых волосков этих растений составляет 0,5 МПа?

## IV. ФОТОСИНТЕЗ

*Фотосинтез* – это процесс поглощения растением лучистой энергии света и перевод ее в энергию химических соединений (органических и неорганических). Главную роль в этом процессе играет использование энергии света для восстановления  $\text{CO}_2$  до уровня углеводов. Общее уравнение фотосинтеза:



В этом уравнении выражена суть явления, состоящая в том, что на свету в зеленом растении из предельно окисленных веществ – диоксида углерода и воды образуются органические вещества и высвобождается молекулярный кислород. Причем в процессе фотосинтеза восстанавливаются не  $\text{CO}_2$ , но и нитраты или сульфаты, а энергия может быть направлена на различные процессы.

Фотосинтез является фактором сбалансированности биосферных процессов на Земле, включая постоянство содержания кислорода и диоксида углерода в атмосфере, состояние озонового слоя, содержание гумуса в почве, парниковый эффект и т. д.

Глобальная чистая продуктивность фотосинтеза составляет  $78 \cdot 10^8$  т углерода в год. Из которых 7 % непосредственно используется на питание, топливо и строительные материалы. Ежегодно в ходе фотосинтеза в атмосферу поступает 70-120 млрд. т. кислорода, обеспечивающего дыхание всех организмов. Существенным фактором фотосинтеза является так же стабилизация содержания  $\text{CO}_2$  в атмосфере. В настоящее время содержание  $\text{CO}_2$  составляет 0,03 % по объему у воздуха, или 711 млрд. т. в пересчете на углерод. Диоксид углерода в атмосфере, а также вода поглощают инфракрасные лучи и сохраняют значительное количество теплоты на Земле, обеспечивая необходимые условия жизнедеятельности.

Следовательно, *фотосинтез* – один из важнейших движущих факторов круговорота веществ и энергии на Земле.

Весь процесс фотосинтеза протекает в зеленых *пластидах* - *хлоропластах*. Различают три вида пластид: *лейкопласты* (бесцветные), *хромпласты* (оранжевые), *хлоропласты* (зеленые). В хлоропластах сосредоточен зеленый пигмент *хлорофилл*, который играет важнейшую роль в процессе *фотосинтеза*. *Хлорофилл* – сложный эфир дикарбоновой кислоты хлорофиллина, у которой одна карбоксильная группа этерифицирована остатком метилового спирта ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), а другая – остатком одноатомного спирта фитола ( $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{OH}$ ). Известно около 10 *хлорофиллов*, которые отличаются по химическому составу, окраске и распространению среди живых организмов. У всех высших растений содержатся хлорофиллы *a* и *b* (рис. 9).

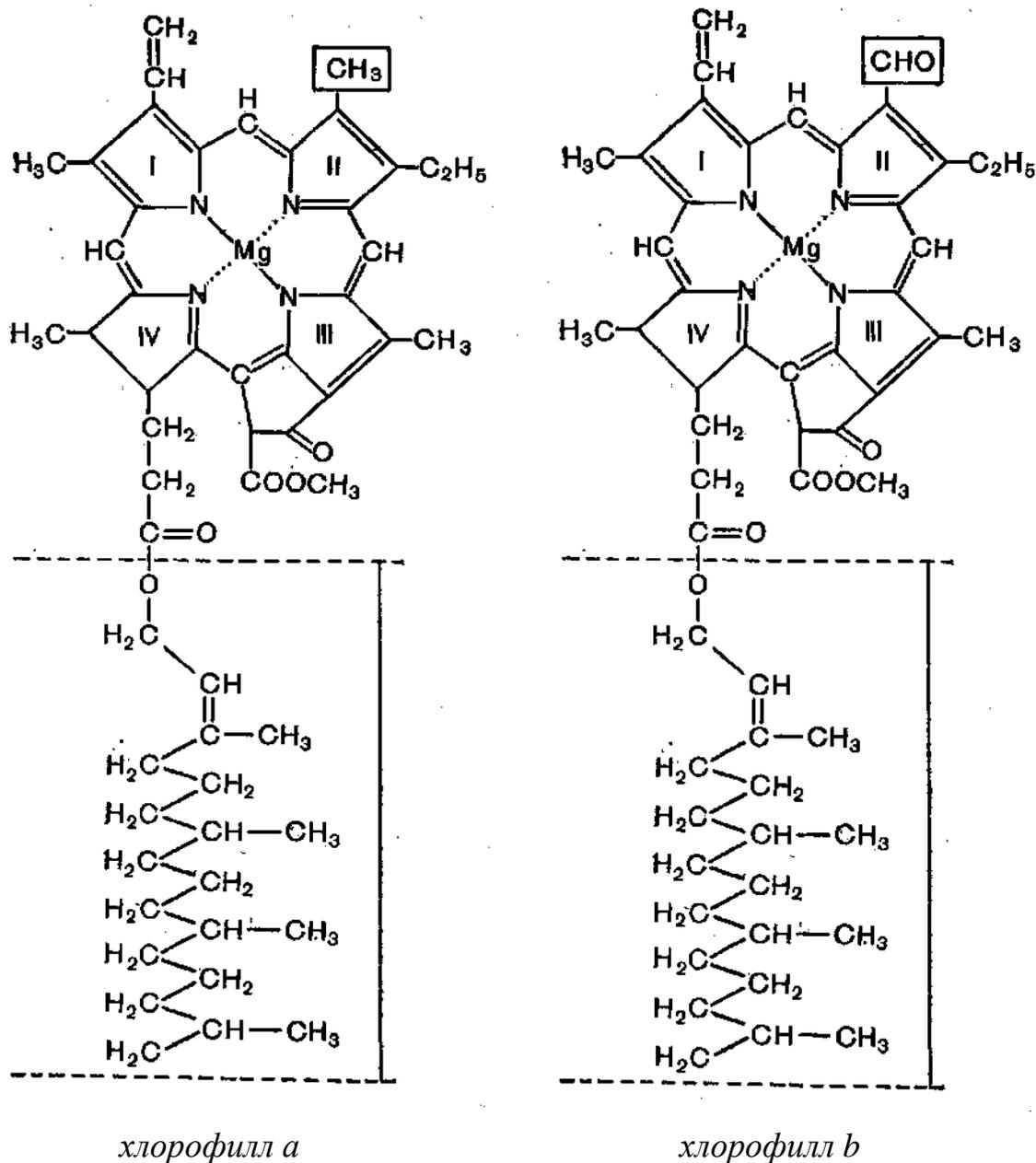
Наряду с зелеными пигментами в хлоропластах содержатся пигменты, относящиеся к группе *каротиноидов*. *Каротиноиды* – это желтые, оранжевые и красные пигменты. *Каротиноиды* содержатся во всех высших растениях и у многих микроорганизмов. *Каротиноиды*, содержащие кислород, получили название *ксантофиллов*.

*Фикобилины* – красные и синие пигменты, содержащиеся в некоторых водорослях.

Пигменты хлоропластов объединены в функциональные комплексы – пигментные системы. Известны две фотосистемы – ФС I и ФС II, которые отличаются по составу.

*Фотосинтез* включает как световые, так и темновые реакции, в связи с этим различают *световую* и *темновую* фазы фотосинтеза.

Сущность световой фазы состоит в поглощении лучистой энергии и ее трансформации в ассимиляционную силу (АТФ и НАДФ•Н), которая необходима для восстановления углерода в темновых реакциях.



**Рисунок 9. Структурная формула хлорофилла**

Продукты световой фазы фотосинтеза АТФ и НАДФ•Н используются в темновой фазе для восстановления  $\text{CO}_2$  до уровня углеводов. Сущность темновых реакций фотосинтеза была раскрыта благодаря исследованиям американского физиолога Кальвина.

## РАБОТА 26

### Получение спиртовой вытяжки пигментов зеленого листа и исследование химических свойств пигментов

Пигментная система хлоропласта представлена пигментами двух типов - зелеными (хлорофиллы *a* и *b*) и желтыми (каротиноиды и ксантофиллы).

По своей химической природе хлорофиллы *a* и *b* – сложные эфиры дикарбоновой кислоты хлорофиллина (магнийпорфирины) (см. рис. 7).

Пигменты легко извлекаются из сухих или свежих листьев полярными растворителями (этиловым спиртом, ацетоном), которые разрушают связь хлорофиллов и ксантофиллов с липопротеидами пластид и этим обеспечивают их полное экстрагирование.

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

**Объект исследований:** листья крапивы (*Urtica dioica*).

**Ход работы.** Несколько листьев крапивы размельчить и растереть в фарфоровой ступке с небольшим количеством кварцевого песка и 5 мл этилового спирта. Для нейтрализации кислотности добавить на кончике скальпеля мел, дать содержимому ступки отстояться и, сливая по стеклянной палочке жидкую фракцию, отфильтровать содержимое ступки в пробирку через сухой бумажный фильтр.

Оставшуюся в ступке массу повторно растереть с 5 мл спирта и профильтровать через тот же фильтр.

Полученный фильтрат содержит набор всех пигментов, но из-за количественного преобладания хлорофиллов окрашен в темно-зеленый цвет.

*a) Разделение пигментов по Краусу.*

Метод основан на разной растворимости пигментов в различных органических растворителях - спирте и бензине. Отлить в пробирку

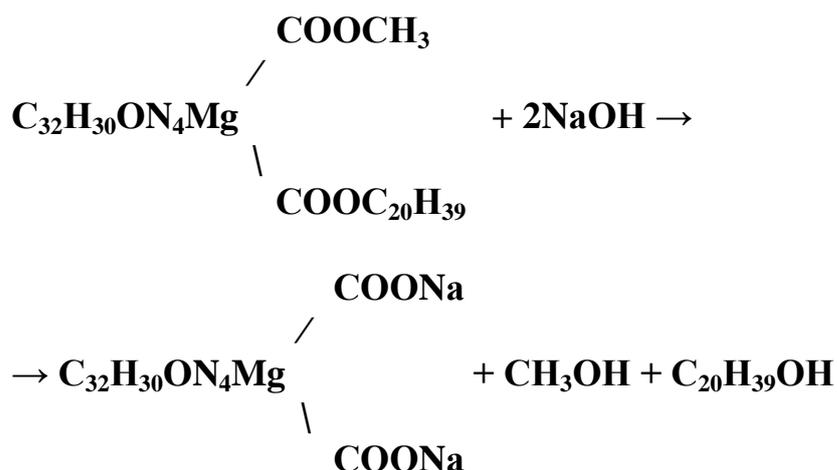
2-3 мл спиртовой вытяжки и, добавив в неё двойное количество бензина, сильно взболтать, содержимое несколько раз. Дать отстояться. Происходит расслоение спирта и бензина; в верхний бензиновый слой переходят зелёные пигменты и каротины, а ксантофиллы остаются в нижнем спиртовом слое, придавая ему золотистую окраску.

*б) Омыление хлорофилла щёлочью*

К 2-3 мл спиртовой вытяжки пигментов добавить 1 мл. 20 %-ного раствора щёлочи и взболтать. После смешивания экстракта со щёлочью пробирку помещают в кипящую водяную баню. Как только раствор закипит, пробирку вынимают и охлаждают. К охлаждённому раствору добавляют равный объём бензина и несколько капель воды для лучшего разделения смеси. Затем содержание пробирки резко встряхивают и дают ему отстояться.

В бензиновый слой перейдут каротин и ксантофилл, а в спиртовой раствор - натриевая соль хлорофиллиновой кислоты (зарисовать).

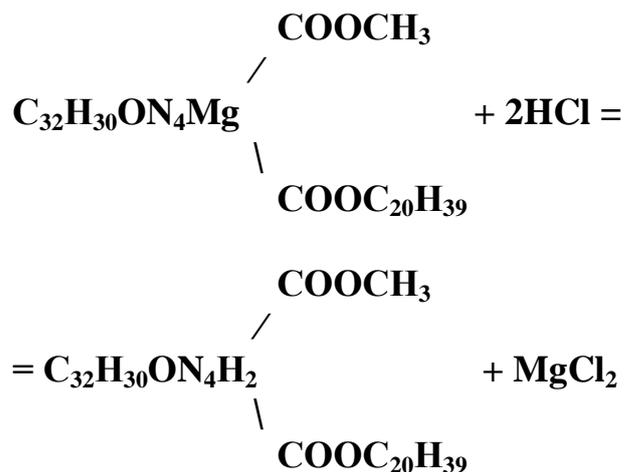
В выводах записать реакцию омыления хлорофилла, в результате которой происходит отщепление спиртов - метилового и фитилового, а двухосновная кислота хлорофиллин даёт соль:



Соли хлорфиллинов имеют зелёную окраску, но отличаются от хлорофилла нерастворимостью в бензине. Указать, какие вещества растворены в спирте, и какие в бензине, имея в виду, что жёлтые пигменты на щёлочь не реагируют.

в) *Получение феофитина и восстановление металлоорганической связи*

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



В одну из пробирок с феофитином внести на кончике ножа немного ацетата меди и довести раствор до кипения. Если окраска не изменяется добавить еще ацетата меди и продолжать нагревание. Отметить изменение окраски благодаря восстановлению металлоорганической связи (атом меди становится на то место, где раньше был магний). Написать уравнение реакции.

**Оформление работы.** Зарисовать пробирки с указанием пигментов по слоям. Написать соответствующие реакции и сделать вывод.

**Материалы и оборудование:** свежие или сухие листья растений, спирт этиловый, бензин, 20 %-й раствор NaOH в капельнице, 10 %-ная соляная кислота, карбонат кальция, уксуснокислый цинк или медь, кварцевый песок, ступка с пестиком, воронка, стеклянная палочка, штатив с пробирками, пипетка, ножницы, скальпель, вазелин, насос Камовского, колба Бунзена со стеклянным фильтром, водяная баня.

## РАБОТА 27

### Оптические свойства пигментов листа

В процессе фотосинтеза световая энергия перед преобразованием в химическую должна быть поглощена пигментами. Пластидные пигменты поглощают свет в пределах видимой части спектра (400-700 нм), благодаря чему эта область излучения называется фотосинтетически активной радиацией, или ФАР. Пигменты поглощают видимый свет не полностью, а избирательно, т.е. каждый пигмент имеет свой характерный спектр поглощения.

Для установления спектра поглощения пигментов используют спектроскоп.

Хлорофилл обладает и другим оптическим свойством - флюоресценцией, возникающей при поглощении света. *Флюоресценция* – это изменение длины волны при отражении поглощенного света. Это явление объясняется переходом молекул хлорофилла из возбужденного в нормальное состояние. Флюоресценция – признак фотохимической активности хлорофилла. При флюоресценции хлорофилл имеет вишневый цвет.

**Цель работы:** изучить оптические свойства пигментов зеленого листа.

**Объект исследования:** растворы, полученные при изучении химических свойств пигментов.

**Ход работы.** *I. Спектры поглощения пигментов.* Направить спектроскоп на источник света. Отрегулировать спектроскоп так, чтобы спектр получился четкий и достаточно яркий. Налить исследуемые растворы в пробирки и поочередно рассмотреть перед щелью спектроскопа.

Спектры зарисовать по форме, приведенной в таблице 20. Поглощенные участки закрасить черным, а видимые участки – цветными карандашами.

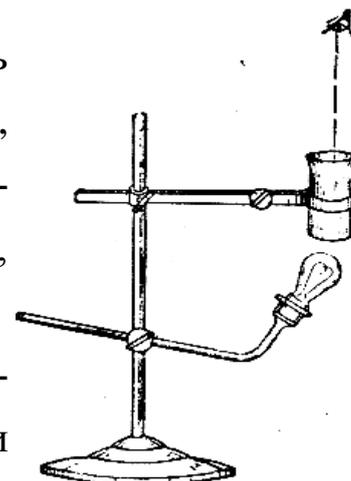
**Таблица 20** – Распределение спектров поглощения пигментов

Растворы	К	О	Ж	З	Г	С	Ф
Общая вытяжка							
Каротин							
Ксантофилл							

*II. Флюоресценция хлорофилла.* Рассмотреть вытяжку пигментов в отраженном свете (рис. 10), для чего поместить пробирку на черном фоне у окна или электролампы и рассмотреть со стороны, откуда падает свет.

**Оформление работы.** Отметить окраску раствора, зарисовать и записать вывод о способности хлорофилла к флюоресценции.

**Материалы и оборудование:** спиртовая вытяжка пигментов листа, спектроскоп, настольная лампа, штатив с пробирками, штатив с лампой, черная бумага или материал, цветные карандаши.



*Рисунок 10. Установка для рассматривания концентрированной спиртовой вытяжки хлорофилла в проходящих лучах*

## РАБОТА 28

### Количественное определение пигментов

Хлорофилл и каротиноиды являются важнейшими компонентами фотосинтетического аппарата растений. Количественное содержание этих пигментов в листьях зависит от генетической природы организма и его жизнедеятельности. Поэтому оно может быть использовано как физиологический показатель. Количество пигментов отражает реакцию растения на условия произрастания. В связи с этим возникает необходимость проследить динамику содержания пигментов в органах растения.

Определение содержания пигментов проводят *спектрофотометрическим* методом. Данный метод является наиболее точным при определении содержания пигментов листа. Концентрацию пигментов на спектрофотометре определяют по оптической плотности. При этом возможно определить содержание хлорофиллов и каротиноидов в вытяжке без предварительного разделения.

Содержание хлорофилла в листьях растений достигает 0,7 % сырой массы, в среднем составляя около 0,3%. При расчете на 1 дм<sup>2</sup> листовой поверхности количество хлорофилла варьирует в пределах 0,7-0,8 мг. Каротиноидов в листьях примерно в 3-8 раз меньше, чем хлорофилла.

**Цель работы:** определить количество хлорофилла и каротиноидов в листьях растений.

**Объект исследований:** листья крапивы (*Urtica dioica*).

**Ход работы.** *Получение вытяжки пигментов.* Взять навеску 2-3 г листьев растений. Ножницами или специальными шаблонами нарезают листья так, чтобы средняя и крупные жилки не попадали в пробу. Навеску листьев растирают в фарфоровой ступке, прибавив предварительно на кончике скальпеля CaCO<sub>3</sub> (для нейтрализации кислот клеточного сока) и небольшое количество кварцевого песка (для лучшего размельчения листьев, разрушения клеточных оболочек). Хорошо растёртую массу заливают в ступке 95 %-ным ацетоном (5-10 мл.) и растирают снова. После непродолжительного отстаивания жидкость сливают по стеклянной палочке (по возможности без осадка) в воронку со стеклянным пористым фильтром, укреплённую в колбе Бунзена, и фильтруют с помощью масляного насоса. Эту часть работы выполняет дежурный. К растёртой массе снова прибавляют 3-5 мл ацетона, растирают в течение нескольких минут и фильтруют через ту же воронку.

*Определение концентрации пигментов.* Определение содержания пигментов проводят на спектрофотометре. Плотность экстракта на приборе измеряют при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов *a* и *b* в красной области спектра и при длине волны абсорбированного максимума каротиноидов. Концентрацию пигментов рассчитывают по следующим уравнениям.

Для 100%-го ацетона (по Хольму-Веттштейну):

$$\begin{aligned}C_{хл.а} &= 9,784D_{662} - 0,990D_{664}, \\C_{хл.б} &= 21,426D_{644} - 4,650D_{662}, \\C_{хл.а + хл.б} &= 5,134D_{662} + 2,436D_{644}, \\C_{кар.} &= 4,695D_{440,5} - 0,268C_{хл.а + хл.б}\end{aligned}$$

Для 85%-го ацетона (по Реббелену):

$$\begin{aligned}C_{хл.а} &= 10,3D_{663} - 0,918D_{664}, \\C_{хл.б} &= 19,7D_{644} - 3,87D_{663}, \\C_{хл.а + хл.б} &= 6,4D_{663} + 18,8D_{644}, \\C_{кар.} &= 4,75D_{452,5} - 0,226C_{хл.а + хл.б}\end{aligned}$$

Для 80%-го ацетона (по Вернону):

$$\begin{aligned}C_{хл.а} &= 11,63D_{665} - 2,39D_{649}, \\C_{хл.б} &= 20,11D_{649} - 5,18D_{665}, \\C_{хл.а + хл.б} &= 6,45D_{665} + 17,72D_{694}.\end{aligned}$$

Для 96%-го раствора этанола:

$$\begin{aligned}C_{хл.а} &= 13,70D_{665} - 5,76D_{649}, \\C_{хл.б} &= 25,80D_{649} - 7,60D_{665}, \\C_{хл.а + хл.б} &= 6,10D_{665} + 20,04D_{594} = 25,1D_{654}.\end{aligned}$$

Для этилового спирта:

$$\begin{aligned}C_{хл.а} &= 9,93D_{660} - 0,78D_{642,5}, \\C_{хл.б} &= 7,6D_{642,5} - 2,81D_{650}, \\C_{хл.а + хл.б} &= 7,12D_{660} + 16,8D_{642,5},\end{aligned}$$

$$C = \frac{1000D_{480} - 0,52 C_{хл.а} - 7,25 C_{хл.б}}{226}$$

**Оформление работы.** Результаты записать в таблицу 21 и сделать выводы.

**Таблица 21 – Концентрация пигментов**

Вариант	Навеска листьев, мг		Объем вытяжки, мл		Оптическая плотность			
					$D_{663}$	$D_{674}$	$D_{452,5}$	
	Содержание пигментов в вытяжке, мг на 25 мл				Содержание пигментов, % массы сырых листьев			
	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Хлорофилл <i>a</i> + Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Хлорофилл <i>a</i> + Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды

**Материалы и оборудование:** листья растений (крапива), ацетон, карбонат кальция ( $\text{CaCO}_3$ ), кварцевый песок, ступка с пестиком, колба Бунзена с пробкой, в которую вставлен стеклянный фильтр, насос Камовского, вазелин, стеклянные бюксы, спектрофотометр.

## РАБОТА 29

### Влияние внешних условий на интенсивность фотосинтеза водного растения

Под *интенсивностью фотосинтеза* понимают количество  $\text{CO}_2$ , усваиваемое единицей листовой поверхности за единицу времени. Также для характеристики активности фотосинтеза используют количество  $\text{O}_2$ , выделяемое единицей листовой поверхности за единицу времени.

Для определения интенсивности фотосинтеза водных растений можно использовать метод счета пузырьков. При фотосинтезе обра-

зуется органическое вещество и кислород, который накапливается в межклетниках. При срезании стебля избыток кислорода начинает выделяться с поверхности среза в виде непрерывного тока пузырьков. И чем выше интенсивность фотосинтеза, тем больше выделяется пузырьков.

Данный метод не отличается большой точностью, но зато очень прост и дает наглядное представление о тесной зависимости процесса фотосинтеза от внешних условий.

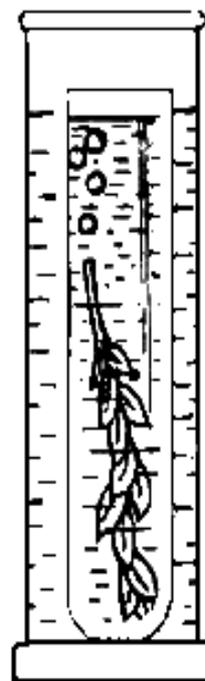
**Цель работы:** установить влияние внешних факторов среды на интенсивность фотосинтеза.

**Объект исследований:** водное растение элодея (*Elodea canadensis*).

**Ход работы.** Веточку элодеи с неповрежденной верхушечной почкой осторожно обрезать под водой. Погрузить ее срезом вверх в пробирку с водой, предварительно обогащенной углекислотой путем растворения небольшого количества соды (перед погружением веточки внести в пробирку на кончике ножа двууглекислую соду и взболтать). Подождать пока установится равномерный ток пузырьков и приступить к опыту.

*I. Влияние освещенности.* Налить воду, нагретую до 30 °С, в стеклянный сосуд и вставить в этот сосуд пробирку с веточкой элодеи (рис. 11). Сосуд поставить на рабочем столе и подсчитать количество пузырьков кислорода за 5 мин. Включить электролампу, мощностью 100-200 Вт, поместить сосуд на расстоянии 10-15 см и повторить подсчет.

*II. Влияние спектрального состава света.* Заменить во внешнем сосуде воду раствором двухромовокислого калия, который пропускает красные, оранжевые и желтые



**Рисунок 11.** Учет фотосинтеза методом счета пузырьков

лучи и не пропускает сине-фиолетовые. Провести подсчет пузырьков. После этого определить интенсивность фотосинтеза при синем экране (налить во внешний сосуд раствор медного купороса, насыщенный аммиаком), пропускающим голубые, синие и фиолетовые лучи. Все наблюдения провести при одинаковой температуре.

*III. Влияние температуры.* Налить в наружный сосуд воду с температурой в 2-3 раза ниже исходной и провести отсчет пузырьков. Опыты провести на одном и том же расстоянии от источника света.

**Оформление работы.** Результаты записать в таблицу 22 и сделать выводы о влиянии исследованных факторов на интенсивность фотосинтеза.

**Таблица 22** – Показатели подсчета количества пузырьков кислорода

Экран	Освещение	Температура, °С	Количество пузырьков O <sub>2</sub> за 5 мин	Количество пузырьков O <sub>2</sub> в %
Белый	комнатное	18		100
Белый	комн. + доп.	18		x
Белый	комн. + доп.	18		100
Красный	комн. + доп.	18		x <sub>1</sub>
Синий	комн. + доп.	18		x <sub>2</sub>
Белый	комн. + доп.	30		x <sub>3</sub>
Белый	комн. + доп.	18		100

**Материалы и оборудование:** аквариум с элодеей, сода двууглекислая, 1 %-й раствор двухромовокислого калия, 4 %-й раствор медного купороса, насыщенный аммиаком, пинцет, лезвие бритвы, пробирка, вставленная в специальный сосуд, лампа настольная, часы, электроплитка, линейка, спектроскоп, пробирки (2 шт.), термометр.

## РАБОТА 30

### Разделение пигментов листа хроматографическим методом (по Цвету)

Метод бумажной хроматографии широко применяется в настоящее время для разделения (и последующей идентификации) смеси веществ (сахаров, аминокислот и др.) на отдельные компоненты.

Разделение пигментов методом бумажной хроматографии было впервые предложено М.С. Цветом и обусловлено различной абсорбцией отдельных пигментов на бумаге. Раздельные пигменты могут быть в дальнейшем количественно определены с помощью фотоэлектрокалориметра или спектрофотометра.

**Цель работы:** ознакомиться с методом одномерной бумажной хроматографии.

**Объект исследования:** свежие или сухие листья крапивы (*Urtica dioica*).

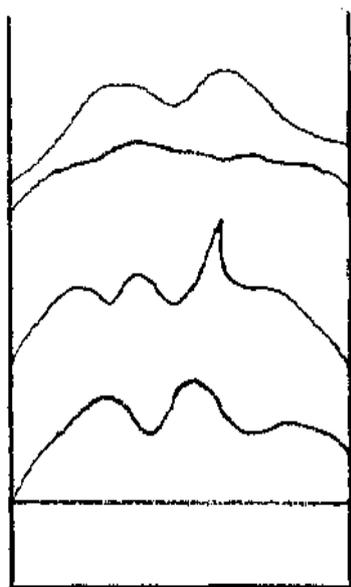
**Ход работы.** Взять навеску 2-3 г листьев растений. Ножницами или специальными шаблонами нарезают листья так, чтобы средняя и крупные жилки не попадали в пробу. Навеску листьев растирают в фарфоровой ступке, прибавив предварительно на кончике скальпеля СаСО<sub>3</sub> (для нейтрализации кислот клеточного сока) и небольшое количество кварцевого песка (для лучшего размельчения листьев, разрушения клеточных оболочек). Хорошо растёртую массу заливают в ступке 95 %-ным ацетоном (5-10 мл.) и растирают снова. После непродолжительного отстаивания жидкость сливают по стеклянной палочке (по возможности без осадка) в воронку со стеклянным пористым фильтром, укреплённую в колбе Бунзена, и фильтруют с помощью масляного насоса. Эту часть работы выполняет дежурный. К растёртой массе снова прибавляют 3-5 мл ацетона, растирают в течение нескольких минут и фильтруют через ту же воронку.

Затем берут полоску хроматографической бумаги шириной 1,5-2,0 см. и длиной 20 см и, держа её вертикально, опускают на несколько секунд в бюкс.

При кратковременном погружении вытяжка поднимается по бумаге на 1,0-1,5 см. Бумагу вынимают и высушивают.

Эту операцию повторяют 5-7 раз до тех пор, пока на стартовой черте не образуется яркая полоса. После образования зелёной полосы конец бумажной полоски опускают в чистый ацетон, чтобы все пигменты поднять на 1,0-1,5 см. Таким образом, на хроматографической бумаге получают окрашенную зону, в которой сконцентрирована смесь пигментов, подлежащих разделению. Полоску бумаги хорошо высушивают в потоке воздуха (до исчезновения запаха ацетона).

Полоску хроматографической бумаги в строго вертикальном положении помещают в цилиндр, на дно которого налит слой петролейного эфира, чтобы растворитель касался неокрашенной зоны и, чтобы она не касалась стенок сосуда. Цилиндр закрывается хорошо притёртым стеклом. Через 15-20 минут растворитель поднимается по



*Каротин (желтый пигмент)*  
*Ксантофилл*

*Хлорофилл – а (темно-зеленого цвета)*

*Хлорофилл b – (светло-зеленого цвета)*

*Стартовая полоса*

**Рисунок 12. Хроматографическое разделение пигментов зеленого листа**

бумаге на 10-15 см. Смесь пигментов при этом разделяется на отдельные компоненты в виде полос, которые располагаются в следующем порядке: внизу остаётся обесцвеченная стартовая черта, затем над ней - хлорофилл *b*, затем хлорофилл *a*, над хлорофиллом располагается ксантофилл и, наконец, выше зоны других пигментов - каротин, поднимающийся вместе с фронтом растворения (рис. 12).

**Оформление работы.** Зарисовать полученную хроматограмму и сделать вывод о причинах деления пигментов на бумаге.

**Материалы и оборудование:** свежие или сушеные листья, ацетон, петролейный эфир, карбонат кальция ( $\text{CaCO}_3$ ), кварцевый песок, полоски бумаги для хроматографии размером 1,5 x 15 см, ступка с пестиком, колба Бунзена с пробкой, в которую вставлен стеклянный фильтр, насос Камовского, вазелин, стеклянные бюксы, стеклянный цилиндр с крышкой и зажимом для удержания хроматографической бумаги, стеклянная палочка, пинцет.

## РАБОТА 31

### Фотосенсибилизирующее действие хлорофилла на реакцию переноса водорода (по Гуревичу)

Сущность световой фазы фотосинтеза заключается в окислении воды до молекулярного кислорода с помощью световой энергии, поглощенной хлорофиллом. Освобожденные при этом электроны переносятся через цепь промежуточных переносчиков к НАДФ, который восстанавливается до НАДФ•Н. Переносу электронов (водорода) к НАДФ способствует хлорофилл, т.е. он выполняет здесь функцию фотосенсибилизатора. Кроме того, при переносе электронов часть энергии расходуется на фотосинтетическое фосфорилирование с образованием АТФ.

Наглядно продемонстрировать фотосенсибилизирующую роль хлорофилла можно в модельных реакциях с выделением из растений

пигментов. При этом в качестве донора водорода берут аскорбиновую кислоту, а акцептора водорода – метиловый красный. Метиловый красный, присоединяя водород, восстанавливается в неокрашенное лейкосоединение. Хлорофилл окраску свою не меняет.

**Цель работы:** продемонстрировать фотосенсибилизирующую роль хлорофилла.

**Объект исследования:** свежие или сухие листья крапивы (*Urtica dioica*).

**Ход работы.** Берут четыре маленьких (2-3 мл) пробирки: в первые три наливают по 1 мл спиртовой вытяжки хлорофилла, в четвертую – 1 мл этилового спирта. В первую, вторую и четвертую пробирки вносят по 10 мг кристаллической аскорбиновой кислоты и несколько раз хорошо встряхивают раствор. Во все пробирки прибавляют по каплям отфильтрованный спиртовой раствор метилового красного до тех пор, пока зеленая окраска не перейдет в красно-бурую, а в четвертой пробирке – ярко-розовую. Вторую пробирку закрывают чехлом из черной бумаги, а затем все пробирки ставят в штатив и освещают электрической лампой (300 в), расположив ее на расстоянии примерно 15 см от штатива.

После 10-15-минутного освещения в первой пробирке, вследствие восстановления, метиловый красный обесцвечивается, и раствор вновь приобретает зеленую окраску. В остальных пробирках окраска раствора не изменяется, т. к. в отсутствие света, аскорбиновой кислоты или хлорофилла метиловый красный не восстанавливается в лейкосоединение.

С помощью описанной реакции можно показать также зависимость фотосенсибилизирующего действия хлорофилла от интенсивности света и его спектрального состава.

**Оформление работы.** Результаты опыта записать в таблицу 23 и сделать вывод.

**Таблица 23 – Условия проведения опыта**

Вариант	Состав смеси в пробирках			Условия опыта	Результаты
	вытяжка хлорофилла (мл)	этиловый спирт (мл)	кристаллическая аскорбиновая кислота (мг)		
1	1	-	10	свет	
2	1	-	10	темнота	
3	1	-	-	свет	
4	-	1	10	свет	

**Материалы оборудование:** спиртовой раствор хлорофилла, метиловый красный (раствор в этиловом спирте), кристаллическая аскорбиновая кислота, пробирки, пипетки на 10 мл, штатив, электрические лампы на 300 в.

## РАБОТА 32

### Образование первичного крахмала на свету

У подавляющего большинства высших растений крахмал очень быстро синтезируется в хлоропластах из углеводов, образующихся в процессе фотосинтеза. Такой крахмал часто называют *фотосинтетическим* или *ассимиляционным*. Фотосинтетический крахмал – довольно лабильное соединение. Однако в листьях некоторых растений, например в листьях злаков, крахмал почти не обнаруживается, и почти все углеводы в них представлены сахарозой и другими относительно простыми по строению соединениями.

Другая форма крахмала – *запасной* крахмал, который синтезируется и откладывается в семенах, клубнях, луковицах и других органах растений. Особенно много крахмала в семенах риса (60-80%), кукурузы (65-75%), пшеницы (60-70%) и в клубнях картофеля (12-20%).

**Цель работы:** убедиться, что на свету в листьях образуется крахмал.

**Объект исследования:** листья герани (*Pelargonium zonale*) или бегонии (*Begonia heraclefolia*).

**Ход работы.** Для того, чтобы убедиться в образовании крахмала на свету, необходимо удалить крахмал, уже имеющийся в листьях. Для этого растение поместить на сутки (и больше) в темноту. В темноте крахмал вновь не образуется, имеющийся же крахмал частью оттекает из листа (превращаясь в растворимые формы углеводов) в другие органы растений, частью же расходуется в процессе дыхания.

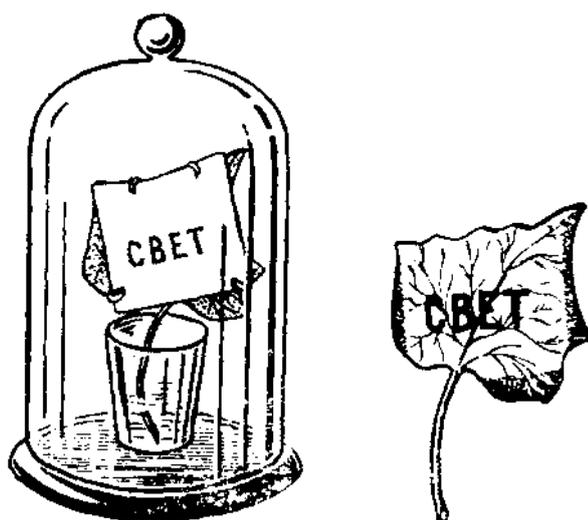
Перед началом опыта необходимо убедиться в отсутствии крахмала, для чего отрезать лист и прокипятить в воде несколько минут. Перенести лист в пробирку со спиртом и выдержать в водяной бане до обесцвечивания, а затем обработать йодистым калием.

Отдельные листья закрыть черной бумагой, на которой предварительно вырезать различные фигурки, и выставить растение на искусственный источник света на 60-90 минут.

После этого листья освободить от черной бумаги, срезать и соответствующим образом обработать. Для быстрого извлечения хлорофилла лист убить кипящей водой. Затем лист поместить в спирт и выдержать до обесцвечивания, которое может быть ускорено нагреванием на водяной бане. После этого лист погрузить в кипящую воду (одна минута) для размягчения тканей. Пластинку листа тщательно расправить в чашке Петри и залить раствором йода в йодистом калии.

В освещенных местах обнаруживается обильное образование крахмала (синяя или черная окраска). В местах, закрытых экраном, крахмал не обнаруживается, они окрашиваются от йода в желтый цвет (рис. 13).

**Оформление работы.** Сделать соответствующие выводы.



**Рисунок 13. Образование крахмала на свету (проба Сакса)**

**Материалы и оборудование:** герань, электрическая лампочка на 250-500 ватт, черная бумага, спирт этиловый, водяная баня, раствор йода в йодистом калии, чашки Петри.

**Вопросы и задачи для самоконтроля**

1. Что такое фотосинтез?
2. В каких частях клетки осуществляется фотосинтез?
3. Какие пигменты находятся в хлоропластах?
4. Как извлечь пигменты из листа и разделить их?
5. Что такое флуоресценция и чем она объясняется?
6. Какова роль каротиноидов в процессе фотосинтеза?
7. Что такое квантовый выход фотосинтеза?
8. Каковы структура и функция фотосинтетической единицы (ФЕ)?
9. Каково происхождение кислорода, выделяемого при фотосинтезе?
10. К спиртовой вытяжке из зелёного листа добавили вдвое больший объём бензина, тщательно взболтали и дали отстояться. Какова будет окраска спирта и бензина? Как это объяснить?
11. При помощи какой реакции можно доказать, что хлорофилл является сложным эфиром? Напишите уравнение этой реакции?
12. Почему очень концентрированные растворы хлорофилла имеют тёмно-красный цвет?
13. При помощи какой реакции можно доказать, что в молекуле хлорофилла содержится атом магния? Напишите уравнение этой реакции.

14. Сколько органического вещества выработает растение за 15 минут, если известно, что интенсивность фотосинтеза  $20 \text{ мг/дм}^2 \cdot \text{ч}$ , а площадь листьев  $2,5 \text{ м}^2$ ?
15. К раствору феофитина добавили несколько кристаллов сульфатов цинка и нагрели до кипения. Как изменится при этом окраска раствора? Напишите уравнение этой реакции.
16. Веточка элодеи была погружена в воду и освещена сначала красным, а затем синим светом той же интенсивности. В каких лучах будут быстрее выделяться пузырьки кислорода? Как это объяснить?
17. При помощи, какой реакции можно доказать, что в молекуле хлорофилла существует металлорганическая связь. Напишите уравнение этой реакции.
18. Солнечная радиация охватывает широкий диапазон длин волн, от очень малых (космические лучи) до весьма больших (радиоволны). Растения используют, однако, лишь очень небольшую часть лучистой энергии, примерно в одном и том же интервале длин волн - от 400 до 700 Нм. Чем можно это объяснить?
19. Эмерсон и Арнон в 1932 г. обнаружили, что квантовый выход фотосинтеза можно увеличить, если вместо непрерывного освещения давать свет короткими вспышками с более длительными темновыми промежутками. Чем можно это объяснить?
20. Как создавалось представление о фотосинтезе, и какие учёные принимали в этом участие?
21. Приведите доводы, вынуждающие нас считать, что фотосинтез включает не один этап, а состоит из ряда реакций.
22. Каким образом кооперативное взаимодействие электронов и протонов создаёт условия для образования АТФ в процессе фотосинтеза?
23. Какие конечные продукты, образующиеся в световых реакциях фотосинтеза используются при фиксации  $\text{CO}_2$ ?
24. Каковы анатомо-физиологические особенности светолюбивых и теневыносливых растений?
25. Можно ли вырастить нормальные растения при искусственном освещении?
26. Оказывает ли влияние температура на процесс фотосинтеза и почему?

27. Профессор Л.А. Иванов приводит следующие данные: при слабом освещении, составляющем 1 % от полного солнечного, листья клена поглотили 0,54 мг  $\text{CO}_2$ , листья дуба выделили 0,12 мг  $\text{CO}_2$  за 1 час на 1 г сырой массы, а у листьев ивы не наблюдалось ни поглощения, ни выделения  $\text{CO}_2$ . Какие выводы можно сделать на основании этого?
28. Что такое интенсивность фотосинтеза? Как ее можно рассчитать?
29. Почему поглощающим пигментом при фотосинтезе считается хлорофилл, хотя лист содержит также ряд других пигментов, поглощающих свет? какова функция этих других пигментов?
30. Как объяснить прекращение фотосинтеза у срезанного и поставленного в воду листа при самых благоприятных внешних условиях?
31. Несмотря на то, что интенсивность фотосинтеза сосны примерно в 3 раза меньше, чем у берёзы (при одинаковых внешних условиях), урожай органической массы этих пород при расчёте на 1 га почти одинаков. Как это объяснить?
32. Освещённость составляет 80 % от оптимальной для данного растения величины, температура – 30 % от оптимальной величины, а все остальные влияющие на фотосинтез факторы оптимальны. Назовите факторы, увеличение которых: а) вызовет резкое усиление фотосинтеза, б) не приведёт к повышению интенсивности фотосинтеза.
33. За 20 минут побег, площадь листьев которого равна 240 см<sup>2</sup>, поглотил 16 мг  $\text{CO}_2$ . Определить интенсивность фотосинтеза.
34. Измерение фотосинтеза методом листовых половинок проводилось с 8 до 12 часов. Взвешивание высушенных проб листьев дало следующие результаты: а) освещённые листья: 8 ч 0,2203 г, 12 ч - 0,2603 г; б) затемнённые листья: 8 ч -0,2350 г, 12ч - 0,2050 г. Площадь всех проб была одинаковой и составила 100 см<sup>2</sup>. Вычислить по приведённым данным интенсивность фотосинтеза.
35. Компенсационная точка у теневыносливых растений составляет 0,5-1 % полного дневного освещения, а у светолюбивых – 3-5 %. Каковы причины этого различия?
36. Каков биологический смысл красной окраски глубоководных морских водорослей?
37. Приведите доводы, вынуждающие нас считать, что фотосинтез включает не один этап, а состоит из ряда реакций?

## V. ДЫХАНИЕ

В природе существуют два основных процесса, в ходе которых энергия солнечного света, запасенная в органическом веществе, высвобождается – это *дыхание* и *брожение*. *Дыхание* – это аэробный окислительный распад органических соединений, синтезированных в процессе фотосинтеза, на простые, протекающий с потреблением кислорода и сопровождающийся выделением энергии и  $\text{CO}_2$ . *Брожение* – это анаэробный процесс распада органических соединений на более простые, сопровождаемый выделением энергии.

Суммарное уравнение реакции дыхания:

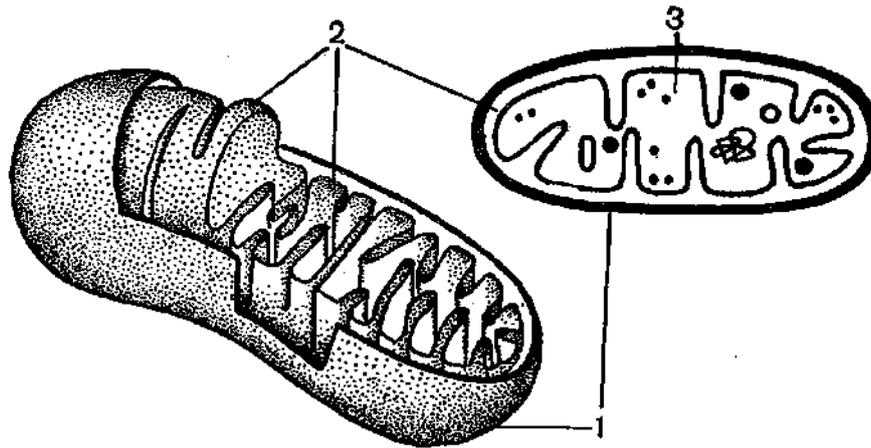


Не вся энергия, выделяемая при дыхании, может быть использована в процессах жизнедеятельности. Используется организмом та энергия, которая аккумулируется в АТФ и идет на процессы синтеза белка, нуклеиновых кислот и др., на процессы поступления и передвижения питательных веществ, роста и развития организмов.

*Дыхание* – сложный окислительно-восстановительный процесс, идущий через ряд этапов. На его промежуточных стадиях образуются органические соединения, которые затем используются в различных метаболических реакциях. К промежуточным соединениям относят органические кислоты и пентозы, образующиеся при разных путях дыхательного распада. Как видно из суммарного уравнения, в процессе дыхания образуется вода. Эта вода в условиях обезвоживания может быть использована растением и предохранять его от гибели.

Органоиды, в которых осуществляются основные процессы дыхательного метаболизма – *митохондрии*. В митохондриях происходит аккумуляция энергии дыхания в аденозинтрифосфате (АТФ). Они представляют собой белковолипоидные органеллы. Важным фактом

является то, что митохондрии содержат нуклеиновые кислоты (РНК – 1%; ДНК – 0,5%), в них также имеется вся система синтеза белка, в том числе и рибосомы. *Митохондрии* окружены двойной мембраной, внутренняя мембрана дает выросты – *кристы*, которые перегородивают внутренне пространство на отдельные отсеки (рис. 14).



1 – наружная мембрана; 2 – внутренняя мембрана; 3 – матрикс

**Рисунок 14. Схема строения митохондрии**

В качестве основного *субстрата дыхания* растения используют углеводы – наиболее распространенные и важные в энергетическом отношении соединения, причем в первую очередь окисляются свободные сахара. Если растения испытывают в них недостаток, то субстратами окисления могут быть полисахариды, белки и жиры, но лишь после их гидролиза. От *субстрата дыхания* зависит *дыхательный коэффициент (ДК)*, т.е. отношение  $\text{CO}_2$ , выделившегося в процессе дыхания, к поглощенному за тот же промежуток времени  $\text{O}_2$ . Для углеводов он равен единице:



Если субстратом дыхания являются более бедные кислородом

жирные кислоты, то ДК будет меньше единицы (на примере стеариновой кислоты):



На окисление более окисленных, чем углеводы, органических кислот требуется меньше кислорода, что способствует увеличению ДК (на примере щавелевой кислоты):



Существуют две основные системы и два основных пути превращения дыхательного субстрата: 1) гликолиз + цикл Кребса (дихотомический), 2) пентозофосфатный (апотомический). Роль этих путей дыхания может меняться в зависимости от типа растений, возраста, фазы развития и в зависимости от условий внешней среды. Процесс дыхания растений осуществляется во всех внешних условиях, в которых возможна жизнь.

Ферменты, катализирующие процесс дыхания относятся к классу *оксидоредуктаз*, который представлен *дегидрогеназами* и *оксидазами*. При этом окисление органических соединений в живых тканях протекает при участии ферментных систем, осуществляющих активацию водорода и молекулярного кислорода, и ферментов, выполняющих роль промежуточных переносчиков водорода (электрона).

Изучая химизм процессов гликолиза, цикла Кребса, пентозофосфатного пути и других дыхательных циклов, необходимо представить себе физиологическое значение отдельных этапов окисления, так же как и значение существующего многообразия этих путей.

Процесс дыхания представляет собой центральное звено обмена веществ организма, которое тесно связано с другими процессами метаболизма.

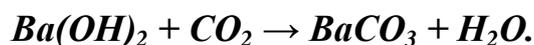
## РАБОТА 33

### Определение интенсивности дыхания семян в закрытом сосуде

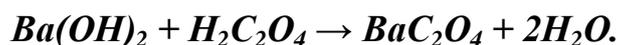
Под *интенсивностью дыхания* понимают количество (мг) выделившегося диоксида углерода или поглощенного кислорода единицей массы растений (г) или единицей площади листа (дм<sup>2</sup>) за 1 час.

Интенсивность дыхания – величина крайне непостоянная. Она связана не только с видовой спецификой организма, но сильно варьирует также в пределах одного и того же растения, в зависимости от особенностей отдельных его органов, тканей и т.д.

Данный метод заключается в учете количества CO<sub>2</sub>, выделяемого семенами при дыхании и поглощаемого баритом. Процесс поглощения диоксида углерода баритом можно записать в виде следующего уравнения:



Избыток барита, не прореагировавшего с CO<sub>2</sub>, оттитровывают щавелевой кислотой:



Следует помнить, что барит ядовит. Его нельзя оставлять открытым, так как он легко поглощает диоксид углерода из воздуха.

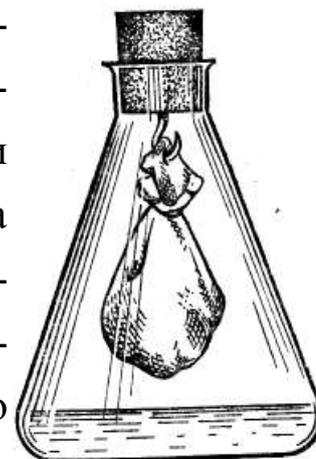
**Цель работы:** сравнить интенсивность дыхания различных объектов.

**Объект исследования:** семена пшеницы (*Triticum aestivum*).

**Ход работы.** Поместить в марлевые мешочки по 10 г сухих и прорастающих семян пшеницы. В две конические колбы при помощи бюретки наливают по 10 мл 0,1 н. Ba(OH)<sub>2</sub> и закрывают колбы пробками. В одну колбу, приоткрыв ее, быстро подвешивают на крючок

пробки мешочек с сухими семенами, в другую – с прорастающими (рис. 15). Выдерживают обе колбы 1 час при комнатной температуре.

В течение опыта периодически осторожно покачивают колбы, чтобы разрушить пленку карбоната бария, образующуюся на поверхности барита и препятствующую полноте поглощения диоксида углерода. Затем вынимают из колбы мешочек с семенами, добавляют 3 капли фенолфталеина и оттитровывают барит 0,1 н. щавелевой кислотой до слабо-розового окрашивания, исчезающего от одной капли кислоты. Так же оттитровывают барит в контрольной колбе. При титровании колбы закрывают пробкой, через которую проходит кончик пипетки, присоединенной к бутылке с баритом.



*Рис. 15. Колба для определения интенсивности дыхания*

Интенсивность дыхания, мг  $\text{CO}_2/(\text{г}\cdot\text{ч})$ , рассчитывают по формуле:

$$I = \frac{(a - b) \cdot K \cdot 2,2}{n},$$

где  $a$  – количество мл 0,1 н. щавелевой кислоты, израсходованной на титрование барита в контрольном варианте;

$b$  – количество мл 0,1 н. щавелевой кислоты, израсходованной на титрование барита в опытном варианте;

$K$  – поправка к титру 0,1 н. раствора щавелевой кислоты;

2,2 – количество  $\text{CO}_2$  мг, соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора щавелевой кислоты;

$n$  – масса сухих семян, г

**Оформление работы.** Результаты опыта записать в таблицу 24, сделать вывод, сопоставить интенсивность дыхания различных объектов.

**Таблица 24** – Показатели интенсивности дыхания пшеницы

Условия опыта	Навеска семян, г	Влажность семян, %	Масса сухих семян, г	Объем барита, мл	Кол-во щавелевой кислоты, пошедшей на титрование, мл		Интенсивность дыхания, мг CO <sub>2</sub> на 1 г сухих семян за 1 ч
					контроль	опыт	
Сухие семена							
Влажные семена							

**Материалы и оборудование:** сухие и прорастающие семена пшеницы, 0,1 н. раствор барита, 0,1 н. раствор щавелевой кислоты, 1 %-й раствор фенолфталеина, весы, конические колбы на 250 мл с пробками, марлевые мешочки.

## РАБОТА 34

### Определение дыхательного коэффициента прорастающих семян

*Дыхательным коэффициентом* (ДК) называется отношение объема выделенного диоксида углерода к объему поглощенного кислорода. Величина ДК зависит, прежде всего, от того, какие вещества используются при дыхании. При окислении углеводов ДК=1, при окислении жиров (более восстановленных соединений) кислорода поглощается больше, чем выделяется диоксида углерода, ДК<1, при окислении органических кислот (менее восстановленных соединений, чем углеводы) ДК>1.

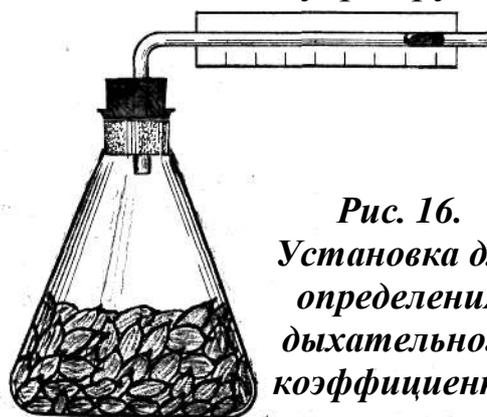
Величина ДК зависит и от других причин. В некоторых тканях из-за затрудненного доступа кислорода наряду с аэробным происходит анаэробное дыхание, не сопровождающееся поглощением кислорода, что приводит к повышению значения ДК. Величина коэффициента обусловлена также полнотой окисления дыхательного субстрата.

Если, кроме конечных продуктов, в тканях накапливаются менее окисленные соединения (органические кислоты), то ДК будет  $<1$ .

**Цель работы:** установить дыхательный коэффициент для семян масличных культур.

**Объект исследования:** семена подсолнечника (*Helianthus annuus*).

**Ход работы.** Половину колбочки заполняют прорастающими семенами подсолнечника. Плотно закрывают пробирку каучуковой пробкой с измерительной трубкой и при помощи пипетки в конец этой трубки вводят небольшую каплю воды, создавая таким образом внутри прибора замкнутую атмосферу (рис. 16). Во время опыта обязательно поддерживают постоянную температуру. Для этого ставят прибор в штатив или колбу и не нагревают руками и дыханием. Измеряют, на сколько делений шкалы продвинется капля внутри трубки за 2 минуты. Для получения точного результата вычисляют среднюю величину из нескольких отсчетов. Полученная величина (А) выражает разницу между объемом поглощенного при дыхании кислорода и объемом выделенного диоксида углерода.



**Рис. 16.**  
Установка для определения дыхательного коэффициента

Открывают колбочку с семенами и вкладывают в нее пинцетом свернутую в кольцо полоску фильтровальной бумаги, смоченную 20 %-м раствора едкого натра. Снова закрывают колбочку, помещают в измерительную трубку новую каплю воды и продолжают измерение скорости ее движения при той же температуре. Теперь отсчеты, из которых опять вычисляют среднюю величину за тот же период, выражают собой объем поглощенного при дыхании кислорода (В), так как выделенный диоксид углерода поглощается щелочью. Дыхательный коэффициент будет равен:

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = \frac{\text{B} - \text{A}}{\text{B}}$$

**Оформление работы.** Результаты опыта записать в таблицу 25. Сделать вывод о величине дыхательного коэффициента более восстановленных соединений – жиров.

**Таблица 25** – Показатели дыхательного коэффициента

Условия опыта	Отсчеты, мм за 2 минуты				ДК= $\frac{\text{B}-\text{A}}{\text{B}}$
	1	2	3	среднее	
Без щелочи (А)					
Со щелочью (В)					

**Материалы и оборудование:** прорастающие семена подсолнечника, 20-й раствор едкого натра, прибор для определения дыхательного коэффициента, пинцет, полоски фильтровальной бумаги, песочные часы на 2 мин, стеклянная чашка, пипетка, стеклянная палочка, коническая колба на 50 мл.

## РАБОТА 35

### Количественное определение активности каталазы по Баху и Опарину

В процессе окисления ряда веществ в растениях под действием оксидаз образуется перекись водорода:



где  $AH_2$  – восстановленный субстрат;  $A$  – окисленный субстрат.

Перекись водорода в повышенных концентрациях оказывает токсическое действие на цитоплазму клеток. Под действием фермента каталазы перекись водорода разлагается на воду и кислород:



В результате этого каталаза освобождает растительные клетки от ядовитого воздействия перекисных соединений.

**Цель работы:** определить активность каталазы в 1 г зерна за 1 час.

**Объект исследований:** семена пшеницы (*Triticum aestivum*).

**Ход работы.** Взять 1 г семян и растереть в ступке до однородной массы. Отмерить 50 мл дистиллированной воды и этим количеством по стеклянной палочке смыть все со ступки в коническую колбу. Колбу оставить отстаиваться на 1 час.

На протяжении первого получаса содержимое колбы встряхивать, за полчаса до фильтрования взбалтывание прекратить. По истечении часа жидкость отфильтровать через складчатые фильтры, предварительно смоченные водой. После этого взять по 20 мл фильтрата в две колбы – для опыта и контроля.

В контрольную колбу немедленно влить 10 мл 10%-ной серной кислоты для инактивации фермента. Затем в обе колбы прилить по 20 мл воды и 3 мл 1%-ной перекиси водорода. Опытную колбу оставить отстаиваться 15 минут (за это время под действием каталазы будет происходить разложение перекиси), а контрольную колбу оттитровать 0,1 н. раствором перманганата калия до слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 30 секунд. Через 15 минут в опытную колбу прибавить 10 мл 10%-ной серной кислоты для прекращения работы фермента и также оттитровать. Титрование идет по уравнению:



После титрования раствор перманганата калия слить из бюретки и промыть ее щавелевой кислотой и водой.

После этого провести расчет активности каталазы.

1. Найти, сколько растительной массы содержится во взятых 20 мл вытяжки (*A*), если на 50 мл приходится 1 г сырого вещества:

50 мл – 1 г;

20 мл – А г.

2. Определить разность между количеством 0,1 н. раствора перманганата калия, пошедшего на титрование в контрольной и опытной колбе (В).

3. Найти активность каталазы в одном грамме сырого веса вещества, выраженную в мл 0,1 н. раствора перманганата калия:

$$\frac{A - B}{1 - x} \quad x = \frac{1 \cdot B}{A}$$

**Оформление работы.** Полученные данные записать в таблицу 26 и сделать соответствующие выводы.

**Таблица 26 – Активность каталазы**

Наименование объекта	Количество $\text{KMnO}_4$ , пошедшее на титрование, мл		Разность между контролем и опытом	Активность каталазы в 1 г зерна за 1 час в мл $\text{KMnO}_4$
	контрольной колбы	опытной колбы		

**Материалы и оборудование:** ступка с пестиком, бюретка, конические колбы на 100 мл, проросшие и непроросшие семена пшеницы, 10%-я серная кислота, 1%-я перекись водорода, 0,1 н. Раствор перманганата калия.

## РАБОТА 36

### Обнаружение каталазы

*Каталаза* – фермент, расщепляющий перекиси с образованием молекулярного кислорода. В результате этого каталаза освобождает растительные клетки от ядовитого воздействия перекисных соединений.

**Цель работы:** обнаружение каталазы в растениях.

**Объект исследования:** клубни картофеля (*Solanum tuberosum*), семена пшеницы (*Triticum aestivum*).

**Ход работы.** I. Свежий картофель растереть в фарфоровой ступке с небольшим количеством дистиллированной воды в присутствии кварцевого песка. Затем вытяжку профильтровать в сухую пробирку. К фильтрату прибавить несколько капель 1-3%-ного раствора перекиси водорода. Выделение пузырьков свидетельствует о наличии каталазы. Необходимо произвести подсчет пузырьков в течение одной минуты.

II. Взять 1-2 г проросших семян пшеницы и растереть в ступке с 10 мл воды. Затем профильтровать полученную массу и разлить фильтрат в две пробирки. В первой пробирке фильтрат прокипятить. После охлаждения в обе пробирки прилить по 1 мл 1%-ного раствора перекиси водорода.

При наличии активной каталазы перекись водорода будет расщепляться с выделением пузырьков кислорода. Отметить в какой пробирке выделяются пузырьки кислорода и сделать соответствующие выводы.

**Оформление работы.** Сделать соответствующие выводы.

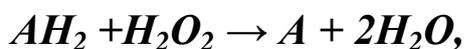
**Материалы и оборудование:** клубни картофеля, проросшие семена пшеницы, пробирки, ступка с пестиком, 1-3%-ная перекись водорода, воронки, фильтровальная бумага, пипетки.

## РАБОТА 37

### Обнаружение пероксидазы в соке клубней картофеля

*Пероксидаза* играет большую роль в окислительно-восстановительных процессах. Она катализирует окисление различных полифенолов, находящихся в растениях в свободном или связан-

ном состоянии, а также ароматических аминов с помощью кислорода перекиси водорода или органических перекисей. Реакция окисления идет по схеме:



где  $AH_2$  – донор водорода;  $A$  – окисленный донор.

Пероксидаза образует с перекисью водорода комплексное соединение, в результате чего перекись активизируется и приобретает способность действовать как акцептор водорода. Она относится к группе Fe-протеидов.

Обнаружение пероксидазы основано на изменении окраски при окислении полифенолов в хиноны.

**Цель работы:** обнаружение пероксидазы в соке клубней картофеля.

**Объект исследования:** клубни картофеля (*Solanum tuberosum*).

**Ход работы.** Взять четыре чистые пробирки и внести в каждую из них по 5 мл 1%-ного раствора гидрохинона. Затем в первую пробирку добавить 1 мл 3%-ного раствора перекиси водорода и 1 мл картофельного сока; во вторую – 1 мл 3%-ного раствора перекиси водорода; в третью – 1 мл картофельного сока; в четвертую – 1 мл 3%-ного раствора перекиси водорода и 1 мл предварительно прокипяченного картофельного сока.

При окислении гидрохинона в хинон происходит побурение раствора. Без добавления гидрохинона и перекиси водорода также происходит некоторое побурение самого картофельного сока, которое связано с действием полифенолоксидазы, окисляющей полифенолы тканей картофеля в присутствии молекулярного кислорода.

**Оформление работы.** Отметить окраску в пробирках, записать результаты опыта в таблицу 27 и сделать выводы.

**Таблица 27 – Окраска раствора в пробирках**

Вариант	Состав смеси в пробирке			Окраска раствора в пробирках
	картофельный сок (носитель пероксидазы)	перекись водорода	гидрохинон	
1	+	+	+	
2	-	+	+	
3	+	-	+	
4	+	+	+	

**Материалы и оборудование:** клубни картофеля, нож, терка, марля, воронка на 50 мл, штатив с пробирками, пипетки, 1%-ный раствор гидрохинона, 3%-ный раствор перекиси водорода.

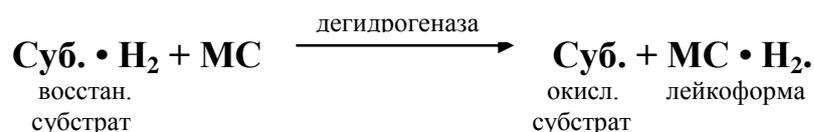
## РАБОТА 38

### Обнаружение дегидрогеназ в растениях

*Дегидрогеназы* – ферменты, катализирующие отщепление водорода от окисляемых субстратов. В зависимости от способности окислительно-восстановительных ферментов передавать отщепляемый от окисляемого субстрата водород непосредственно на кислород воздуха различают *аэробные дегидрогеназы (оксидазы)* и *анаэробные дегидрогеназы*. Оксидазы – ферменты, способные переносить водород от окисляемого вещества непосредственно на кислород воздуха, а анаэробные дегидрогеназы – ферменты, неспособные переносить водород на кислород воздуха. Они передают отщепляемый водород другим акцепторам, ферментам.

Дегидрогеназную активность можно обнаружить по интенсивности восстановления метиленовой сини в анаэробных условиях. При восстановлении метиленовой сини образуется бесцветное лейкосоединение, в результате чего реактивная смесь обесцвечивается.

Восстановление метиленовой сини идет по следующей схеме:



**Цель работы:** обнаружение дегидрогеназы.

**Объект исследования:** семена гороха (*Pisum sativa*).

**Ход работы.** Взять 10 семян набухшего и 10 прокипяченных семян гороха, очистить их от семенной оболочки. Затем поместить в две пробирки отдельно проросшие и прокипяченные семена, залить их раствором метиленовой сини и оставить на 20 минут. Через 20 минут слить краску с обеих пробирок, промыть семена водой, а затем для создания анаэробных условий залить дистиллированной водой. Поместить пробирки на два часа на водяную баню при температуре 30<sup>0</sup>С. Через два часа достать пробирки из водяной бани, слить воду и высыпать семена в фарфоровые тигли.

**Оформление работы.** Отметить окраску семян, зарисовать пробирки с семенами и сделать вывод об изменении окраски живых и прокипяченных семян.

**Материалы и оборудование:** набухшие и прокипяченные семена гороха, пробирки, фарфоровые чашки, водяная баня, электроплитка, термометр, раствор метиленовой сини 1:2000, скальпель, пинцет.

## РАБОТА 39

### Образование амилазы при прорастании семян

В покоящихся семенах очень мало ферментов, а при прорастании в семени происходит накопление ферментов и их активация.

**Цель работы:** убедиться в том, что в проросших семенах пшеницы присутствует фермент амилаза.

**Объект исследования:** семена пшеницы (*Triticum aestivum*).

**Ход работы.** Разрезать вдоль 5 проросших и непроросших семян пшеницы, смочить их дистиллированной водой и разложить пинцетом отдельными рядами на застывшую агар-агаровую крахмальную пластинку срезом вниз. Уложенные половинки семян слегка прижать к агар-агарово – крахмальной смеси для лучшего контакта не нару-



*a* – следы от проросших семян;  
*б* – следы от непроросших семян

**Рисунок 17. Агар-агаровая крахмальная пластинка**

агаре амилазой из проросших семян и амилазой вытяжки гидролизова- лся в мальтозу, не дающую цветной реакции с йодом. В непророс- ших семенах пшеницы амилазы почти нет, а поэтому и гидролиз от йода все участки посинели (рис. 17).

**Оформление работы.** Сделать соответствующие выводы.

**Материалы и оборудование:** проросшие и непроросшие семена пшени- цы, чашки Петри с крахмальным агаром, 3-5%-ный раствор йода в йодистом калии, вытяжка амилазы, скальпель, пинцет.

### **Вопросы и задачи для самоконтроля**

1. Что такое дыхание растений и его суммарное управление?
2. Что показывает дыхательный коэффициент?
3. Как влияют факторы внешней среды на интенсивность процесса дыха- ния?

4. Что такое анаэробное дыхание и как иначе оно называется?
5. Что такое субстраты дыхания?
6. Чем отличается анаэробное дыхание от аэробного?
7. Какое количество энергии выделяется при дыхании и брожении?
8. При участии каких агентов осуществляются в организме окислительные процессы?
9. В чём заключается роль дегидрогеназ?
10. Ферменты, активирующие кислород (оксидазы)?
11. Каковы промежуточные продукты анаэробной фазы дыхания?
12. С какого промежуточного продукта происходит отклонение процесса в сторону дыхания или брожения?
13. Каково значение фосфорилирования в процессе дыхания?
14. В какой форме аккумулируется энергия, освобождаемая в физиологических процессах?
15. Какое значение имеет дыхание в жизнедеятельности растений?
16. В чём сходны и чем отличаются друг от друга процесс фотосинтеза и процесс дыхания?
17. Опишите судьбу атомов: 1) углерода, 2) кислорода и 3) водорода при распаде молекулы пировиноградной кислоты (ПВК) в процессе дыхания.
18. Какие реакции требуются для того, чтобы получить из молекулы глюкозы следующие соединения: фруктозу, сахарозу, одну из жирных кислот, аспарагиновую кислоту, крахмал, этиловый спирт?
19. Укажите реакции, происходящие, когда фруктозо-6-фосфат, образовавшийся при фотосинтезе в цикле Кальвина-Бенсона, превращается: 1) в крахмал и 2) из крахмала в сахарозу, т.е. в форму, используемую для транспортировки. Добавьте к этому реакции, описывающие синтез и распад крахмала, а также реакции синтеза сахарозы. Напишите соответствующие уравнения, в нужном порядке, пользуясь принятыми обозначениями.
20. Из какого промежуточного продукта дыхания образуются жирные кислоты? С каким веществом они должны соединиться, для того чтобы образовались жиры и масла?
21. Растительные масла в наибольшем количестве присутствуют в семенах, причём часто они находятся в зародыше. В чём преимущество такого их

- местонахождения с точки зрения энергетических нужд растения?
22. Почему высшие растения не могут длительно поддерживать свою жизнь в анаэробных условиях, хотя и не погибают сразу после попадания в среду без  $O_2$ ?
  23. Объясните почему интенсивность дыхания растений резко возрастет при увеличении содержания  $O_2$  от 1 до 5-6 %, а при дальнейшем повышении содержания  $O_2$  почти не изменяется.
  24. Интенсивность дыхания листьев определялись методом просасывания. Навеска листьев – 22 г, экспозиция – 40 мин, количество раствора  $Ba(OH)_2$  в поглотителе 100 мл, взято на титрование 20 мл раствора, пошло на титрование 10 мл  $HCl$ . На титрование 20 мл исходного раствора барита израсходовано 18 мл  $HCl$ . Вычислить интенсивность дыхания, если известно, что 1 мл  $HCl$  эквивалентен 2,2 мг  $CO_2$ .
  25. 15 г почек выделили за 30 мин 3 мг  $CO_2$ . Определить интенсивность дыхания на 1 г сухой массы в 1 ч, если известно, что содержание воды в почках составляет 60 %.
  26. Сколько  $CO_2$  выделит 1 кг семян за 10 суток, если известно, что интенсивность дыхания этих семян равна 0,1 мг  $CO_2$  на 1 г сухой массы в 1 ч, а содержание воды в семенах 37,5 %?
  27. Укажите три формы восстановительной силы в клеточных процессах. Как используется их энергия?
  28. Кратко охарактеризуйте функции цепи переноса электронов.
  29. Значение дыхания в жизни растений?
  30. Энергетический баланс процесса дыхания?
  31. Теория окисления веществ по Баху?
  32. Теория окисления веществ по Палладину?
  33. Взаимосвязь дыхания и брожения?
  34. Ферментные системы дыхания?
  35. Пути использования энергии дыхания?
  36. Что такое интенсивность дыхания?
  37. Взаимосвязь дыхания и фотосинтеза?
  38. Способы управления процессом дыхания при возделывании с/х культур?
  39. Экологические аспекты дыхания?
  40. Влияние внутренних факторов на процесс дыхания?

## VI. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ

Под *минеральным питанием* понимают совокупность процессов поглощения, передвижения и усвоения химических элементов, необходимых для жизни растительного организма, в форме ионов минеральных солей, которые могут быть извлечены из окружающей среды с помощью корней (корневое питание) или через листья при нанесении на них растворов солей (некорневое питание).

Анализ элементарного состава растений показывает, что они в среднем содержат 45 % углерода, 42 % кислорода, 6,5 % водорода и 1,5 % азота. Эти четыре элемента называются *органогенами*, в процессе сжигания они окисляются и улетучиваются. Остается зола, состав которой разнообразен. Анализы показывают, что в растениях обнаруживаются следы почти всех химических элементов, находящихся в окружающей среде. Однако для жизни растений необходимы не все элементы, они получили название биогенных.

Элемент считается необходимым, если его отсутствие исключает нормальный жизненный цикл растения; его нельзя заменить каким-либо другим элементом; для данного элемента четко определены его физиологические функции.

Элементы, содержащиеся в растениях, делят на три группы:

1. *макроэлементы* - элементы, которые присутствуют в тканях растений в концентрациях от десятков процентов до сотых долей процента (N, P, S, K, Ca, Mg);

2. *микроэлементы* – содержание которых колеблется от тысячных до сотых долей процента (Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo);

3. *ультрамикроэлементы* – включает элементы, содержание которых в растении измеряется миллионными долями процента (Cs, Ag, Au, Cd).

В настоящее время 20 элементов относят к необходимым элементам питания и 12 элементов считаются условно необходимыми (в скобках приведены условно необходимые элементы):

- I. H, (Li), Na, K, Cu, (Ag)
- II. Mg, Ca, Zn, (Sr, Cd)
- III. B, (Al)
- IV. C, (Si), (Ti, Pb)
- V. N, P, V
- VI. O, S, Mo, (Cr, Se)
- VII. Cl, I, Mn, (F)
- VIII. Fe, Co, (Ni)

Основными источниками питательных веществ для растений являются минеральные соли. Катионы и анионы поступают в растения независимо друг от друга с разной скоростью. Скорость поступления того или иного иона определяется быстротой его использования.

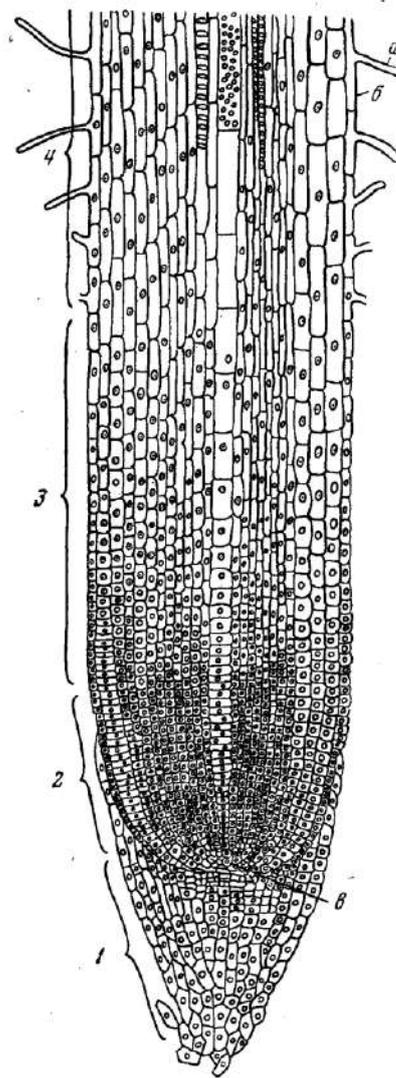
Содержание того или иного элемента в тканях растений постоянно и может сильно изменяться под влиянием следующих основных факторов:

- недостатком или избытком минеральных элементов в среде корнеобитания;
- разной потребностью растений в элементах питания, обусловленной видом растения, этапом онтогенеза, общим состоянием роста и развития;
- усилением или спадом процессов перераспределения элементов питания между органами растения;
- выделением некоторого количества элементов через корни или вымыванием атмосферными осадками в окружающую среду.

В целом процесс минерального питания растения – это сложная цепь биофизических, биохимических и физиологических процессов со своими обратными и прямыми связями и системой регуляции.

Основным органом, поглощающим минеральные вещества, является корень (рис. 18). Самый кончик корня представляет собой *корневой чехлик*. Конус нарастания корня состоит из многих инициальных клеток, находящихся в состоянии митотического деления, эта зона называется *зоной деления*. За этой зоной следует *зона растяжения клеток*, где клетки растягиваются за счет образования вакуолей. За тем следует *зона дифференциации*, где клетки претерпевают изменения и превращаются в специализированные клетки различных тканей. Основной зоной поглощения питательных веществ, снабжающей наземные органы растения, является зона растяжения клеток и зона корневых волосков. Движущей силой поглощительной активности корней, и каждой клетки в отдельности, является работа иных насосов (помп), локализованных в мембранах.

Для выявления физиологических функций отдельных химических элементов, их концентрации и соотношения между собой в среде корнеобитания используют питательные смеси.



ан  
1 – корневой чехлик; 2 – зона деления клеток; 3 – зона растяжения; 4 – зона дифференциации клеток (зона корневых волосков); а - волоски; б – эпидеяма; в – инициальные клетки

**Рисунок 18. Продольный разрез корня ячменя**

## РАБОТА 40

### Микрохимический анализ золы

Содержание одного и того же элемента в растении непостоянно и изменяется под влиянием различных условий в довольно широких пределах. Однако количественное содержание элементов в различных органах растения остается более или менее постоянным.

Для простейшего представления такого распределения пользуются анализом зольных элементов – элементов, которые остаются в золе прокалывания какого-либо органа или ткани растения.

**Цель работы:** проведение качественного анализа некоторых минеральных элементов, содержащихся в золе, с использованием микрохимического метода исследования.

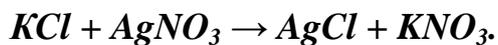
**Объект исследования:** зола листьев, побегов, древесины.

**Ход работы.** В две пробирки насыпать небольшое количество золы. В одну пробирку налить 2 мл дистиллированной воды, в другую 2 мл 10 %-й соляной кислоты. Пробирки тщательно взболтать и дать настояться в течение 15 мин, после чего отфильтровать полученный раствор в чистые пробирки.

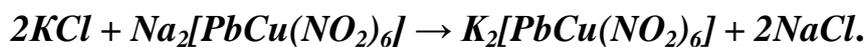
В водной вытяжке обнаруживают хлориды, а в солянокислой – остальные соли (рис. 19).

Взять 6 сухих предметных стекол, пронумеровать и разложить их на бумаге. Нанести на стекла стеклянной палочкой по капле солянокислой вытяжки. Затем на стекла нанести палочкой (каждый раз промывая и вытирая фильтровальной бумагой палочку) по капле соответствующие реактивы в 2-3 мм от капли вытяжки. Обе капли тщательно смешать и размазать в середине стекла. Оставить стекла до тех пор, пока все жидкость не подсохнет. Затем рассмотреть под микроскопом образовавшиеся на предметном стекле кристаллы солей зольных элементов.

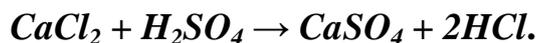
Для обнаружения хлоридов в водную вытяжку добавить немного азотнокислого серебра. При наличии в вытяжке хлоридов выпадает белый осадок хлористого серебра:



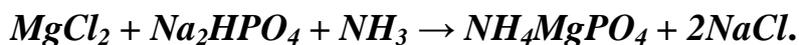
Для обнаружения калия взять водный раствор комплексной соли свинцово-медно-азотнокислого натрия. В результате реакции образуются свинцово-черные и темно-коричневые кристаллики свинцово-медно-азотнокислого калия.



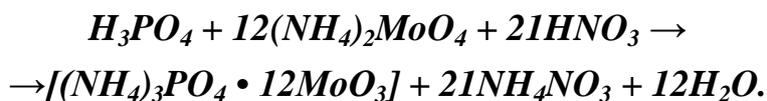
Кальций можно обнаружить, применяя 1 %-й раствор серной кислоты. В результате реакции выпадают игольчатые кристаллики гипса:



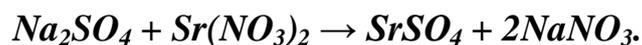
Чтобы открыть магний, к капле испытуемого фильтрата сначала добавляют небольшую каплю раствора аммиака, а затем нанести на стекло каплю 1 %-го раствора фосфорнокислого натрия. В результате образуются кристаллики фосфорно-аммиачно-магнезиальной соли в виде квадратов, прямоугольников, звезд или крыльев:



Для обнаружения фосфора соединить каплю вытяжки с 1 %-м раствором молибденовокислого аммония в 15 %-й азотной кислоте. Получается зеленовато-желтый осадок фосфорно-молибденового аммиака:

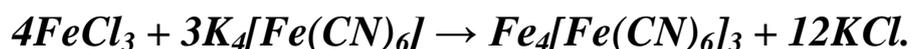


Наличие серы можно обнаружить прибавлением капли 1 %-го раствора азотнокислого стронция:

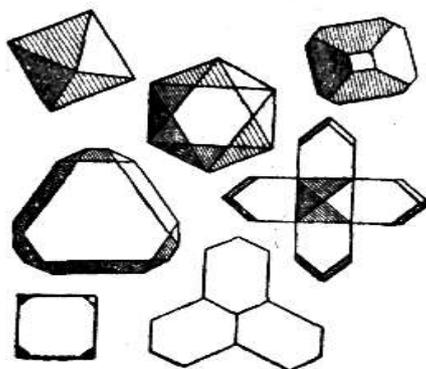


В итоге образуются мелкие закругленные кристаллики сернокислого стронция.

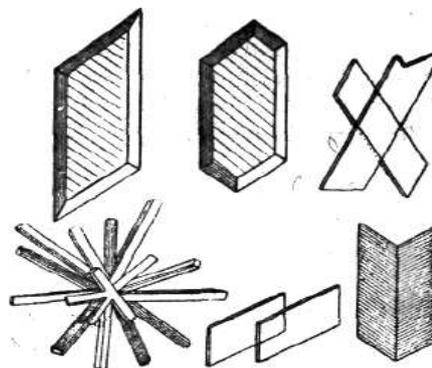
Железо можно обнаружить с помощью раствора желтой кровяной соли. В результате реакции образуется берлинская лазурь:



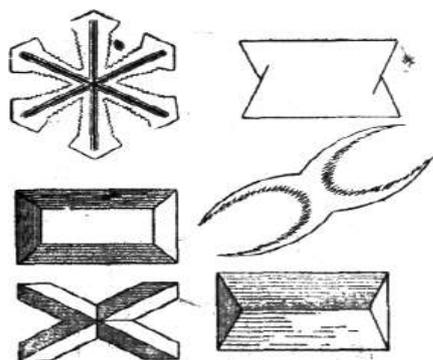
Реакцию на железо рекомендуется проводить в пробирке: к остатку зольной вытяжки добавлять по каплям раствор желтой кровяной соли до появления синей окраски.



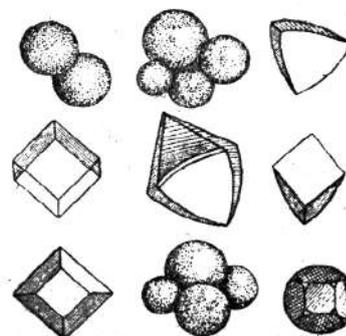
*кристаллики свинцово-медно-азотнокислого калия*



*кристаллики сернокислого кальция*



*кристаллики фосфорно-аммиачномагнезильной соли*



*кристаллики фосфорно-молибденовокислого аммония*

**Рис. 19. Кристаллы некоторых солей под микроскопом**

**Оформление работы.** Результаты исследований оформить в виде рисунков кристаллов. Записать уравнения реакции, сделать вывод

**Материалы и оборудование:** зола, дистиллированная вода, крепкий раствор аммиака, 10 %-я соляная кислота, 1 %-й раствор азотнокислого серебра, 1 %-й раствор свинцово-медно-азотнокислого натрия, 1 %-й раствор серной кислоты, 1 %-й раствор кислого фосфорно-кислого натрия, 1 %-й раствор молибденовокислого аммония в 15 %-й азотной кислоте, 1 %-й раствор желтой кровяной соли, стеклянные палочки, пробирки, предметные стекла, восковой карандаш, микроскоп, маленькие воронки, фильтровальная бумага.

## РАБОТА 41

### Физиологически кислые и щелочные соли

Соли азотнокислого натрия и хлористого аммония химически нейтральные, а физиологически первая соль – щелочная, а вторая – физиологически кислая.

Это явление объясняется тем, что в процессе питания растения больше поглощают из раствора азотнокислого натрия анион  $\text{NO}_3^-$ , а катион  $\text{Na}^+$ , накапливаясь в растворе, подщелачивает его. Из раствора хлористого аммония растения больше поглощают катион  $\text{NH}_4^+$ , а анион  $\text{Cl}^-$  остается в растворе, подкисляя его.

**Цель работы:** установить влияние деятельности корней на изменение рН почвенного раствора.

**Объект исследования:** растения ячменя (*Hordeum vulgare*).

**Ход работы.** Сначала определить рН исходных растворов. Для этого налить по 1 мл растворов ( $\text{NH}_4\text{Cl}$  и  $\text{NaNO}_3$ ) в фарфоровые тигельки и добавить 1 каплю индикатора. Сравнить окраску раствора с окраской цветной шкалы и определить рН.

Затем налить в одну пробирку раствор хлористого аммония, в другую – азотнокислого натрия. Снабдить пробирки этикетками. Вы-

садить в каждую пробирку по три растения ячменя. Через 7 дней снова определить pH раствора в каждой пробирке.

**Оформление работы.** Результаты опыта записать в таблицу 28 и сделать вывод.

**Таблица 28** – Влияние роста растений на изменение pH химически нейтральных солей

Растение	Раствор соли	pH		Выводы
		исходный	Через 7 дней	
Ячмень (пшеница)				

**Материалы и оборудование:** рассада ячменя, раствор азотнокислого натрия (0,2 г в 1 л воды), раствор хлористого аммония (0,2 г в 1 л), вата негигроскопическая, 2 пробирки, 2 тигелька, пипетка, универсальный индикатор.

## РАБОТА 42

### Рост корней пшеницы в растворе чистой соли и смеси солей (антагонизм ионов)

Смягчающее влияние, оказываемое одним катионом на действие другого катиона, называют *антагонизмом ионов*. Например, отдельные соли могут проявлять ядовитое действие на живые клетки, тогда как их смесь оказывается безвредной. Раствор с оптимальным соотношением ионов называется *уравновешенным*.

Антагонизм ионов можно объяснить их конкуренцией за места адсорбции на поверхности плазмалеммы, за переносчики, за активные центры ферментов, а также противоположным действием на гидратацию белков, на вязкость и проницаемость цитоплазмы.

Помимо антагонизма в действиях компонентов смеси солей наблюдается также *синергизм* и *аддитивность*. Синергическое действие солей заключается в том, что одна из них усиливает действие другой. *Аддитивность* – это действие смеси солевых растворов, которое равно сумме действия отдельных компонентов.

**Цель работы:** установить антагонизм различных минеральных ионов.

**Объект исследований:** наклюнувшиеся семена пшеницы (*Triticum durum*).

**Ход работы.** Взять 4 конические колбы на 100 мл. Налить в них растворы по схеме опыта и покрыть горлышко колбочек пропарафинированными марлевыми крышками. Подобрать проростки пшеницы одинаковые по величине и с одинаково развитыми корешками и аккуратно высадить одинаковое их количество на марлевые крышки. Необходимо следить за тем, чтобы корешки были погружены в раствор. Спустя 2 недели измерить высоту проростков, число и длину корней.

**Оформление работы.** Результаты записать в таблицу 29, сделать вывод об антагонизме ионов.

**Таблица 29** – Показатели роста надземной и подземной частей растений

Вариант	Раствор	Количество раствора, мл	Длина надземной части, см	Длина корней, см
1	NaCl	100		
	CaCl <sub>2</sub>	1		
	KCl	2		
2	NaCl	100		
3	CaCl <sub>2</sub>	100		
4	KCl	100		

**Материалы и оборудование:** растворы химически чистых солей – хлористый калий, хлористый натрий и хлористый кальций, 10-ти дневные проростки пшеницы, конические колбочки на 100 мл, марля пропитанная парафином, шпагат.

## РАБОТА 43

### Химический анализ сока растений

Анализ сока растений дает возможность контролировать условия питания растений в полевых условиях и ориентировочно устанавливать необходимость подкормки их теми или иными удобрениями.

Пользуясь полевой лабораторией ОП-1 или ОП-2 можно быстро и довольно точно определить содержание в клеточном соке главных элементов почвенного питания – азота, фосфора и калия. К каплям сока, отжатого из черешков или стеблей, добавляют соответствующие реактивы. Окраску полученных растворов или осадков сравнивают с цветной шкалой, имеющейся в приборе, и выражают результаты анализа в баллах.

Все реактивы приготовлены на концентрированных кислотах, поэтому нужно соблюдать необходимые меры предосторожности с ними.

**Цель работы:** научиться быстро и точно определять нуждаемость растений в питательных веществах.

**Объект исследований:** срезы анализируемых растений.

**Ход работы.** Все определения проводят на бритвенных срезах тех или иных частей растений. Для определения нитратов эти срезы помещают на предметное стекло, для определения фосфора и калия – на фильтровальной бумаге, предварительно положенной на стекло.

Все определения основаны на цветных реакциях. Интенсивность окраски сравнивают с соответствующими шкалами для каждого из исследуемых элементов, где оценка дается в баллах.

*I. Определение нитратов.* Сделать срез анализируемого растения и поместить его на предметное стекло. Раздавить срез стеклянным пестиком и нанести 1 каплю 1 %-го раствора дифениламина. Проследить за появлением синей окраски. Сравнить полученную окраску с таблицей 1 и с цветной шкалой, которые прилагаются к прибору. Результаты записать в баллах по форме, предложенной в таблице 27. Определить степень нуждаемости растения в азотных удобрениях.

*II. Определение фосфатов.* Поместить кусочек фильтровальной бумаги на стекло и нанести 1 каплю раствора молибденовокислого аммония. Затем наложить срез анализируемого растения и раздавить его стеклянным пестиком. После этого на срез и пятно сока последовательно нанести по 1 капле раствора бензидина и уксуснокислого натрия. При наличии в растении фосфатов на бумаге появится синее окрашивание капли сока и ткани растения. Интенсивность окраски сравнить с показателями таблицы 2 и цветной шкалы для определения фосфатов, прилагаемых к прибору. Результаты записать в баллах и установить степень нуждаемости растений в фосфорных удобрениях.

*III. Определение калия.* Поместить кусочек фильтровальной бумаги на стекло и наложить срез анализируемого растения. Раздавить срез стеклянным пестиком, отодвинуть срез несколько в сторону от пятна выдавленного сока. Нанести на срез и пятно сока сначала 1 каплю дипикриламидата магния, затем 1 каплю соляной кислоты. Соляная кислота растворяет избыток реактива, образуя лимонно-желтое окрашивание и не растворяет калийную соль дипикриламина. Поэтому лимонно-желтая окраска указывает на отсутствие калия, интен-

сивность краски сравнить с таблицей 3 и цветной шкалой для определения калия.

**Оформление работы.** Результаты записать в таблицу 30 в баллах и установить степень нуждаемости растения в калии, фосфоре и азоте.

**Таблица 30** – Показатели нуждаемости растений в элементах питания

Вариант	Азот		Фосфор		Калий	
	балл	нуждаемость	балл	нуждаемость	балл	нуждаемость

**Материалы и оборудование:** Лаборатория ОП-1 или ОП-2, растения комнатные или полевые.

## РАБОТА 44

### Обнаружение нитратов в растениях

*Азот* – составная часть многих жизненно важных органических соединений растений. Он входит в состав белков, нуклеиновых кислот, ДНК, РНК, ферментов, витаминов и других биологически активных веществ.

Для питания растений в равной мере пригодны  $\text{NH}_4^+$  и  $\text{NO}_3^-$ . Лишь для некоторых растений может иметь преимущество либо аммонийная, либо нитратная формы азота, но большинство растений потребляют азот в обеих этих формах. Нитраты, находясь в основном в почвенном растворе, с большей вероятностью, чем аммоний, могут перемещаться в почве и поглощаться корнями растений.

*Нитраты* (соли азотной кислоты), поглощаемые корнями из почвы, в растении восстанавливаются до аммиака, который связывается кетокислотами, образуя в процессе аминирования так называемые первичные аминокислоты – аланин, аспарагиновую и глутаминую. Большая часть аммиака связывается в процессе аминирования.

Высокая концентрация нитратов в продуктах питания негативно сказывается на питательной ценности данной продукции. Более того, такие продукты могут быть опасными для человека и животных.

**Цель работы:** научиться определять содержание нитратного азота в растениях.

**Объект исследований:** свежий растительный материал (овощи, фрукты, стебли и листья злаковых или бобовых культур и др.).

**Ход работы. I. Экспресс-метод определения нитратов.** Взять Экотестер и согласно инструкции подготовить его к работе, затем воткнуть зонд в соответствующий овощ или фрукт, и снять показания прибора. После промыть зонд в дистиллированной воде и протереть салфеткой. Эту операцию следует проводить после каждого определения. Затем определение нитратов в следующем объекте.

***II. Определение содержания нитратов с помощью ионоселективного электрода.*** Свежий растительный материал измельчить. При помощи тарированной фарфоровой чашки отвесить 12,5 г измельченного материала. Навеску перенести в ступку, растереть с кварцевым песком до однородной массы. Содержимое ступки залить 10-20 см<sup>3</sup> из отмеренных 50 см<sup>3</sup> 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов и продолжить растирать в течение 3-5 минут. Затем массу количественно переносят в стаканчик на 100 см<sup>3</sup>, смывая остатки в ступке и на пестике оставшимся раствором алюмокалиевых квасцов. Перенесенную массу энергично перемешать в стаканчике палочкой в течение 2-3 минут. В подготовленных гомогенатах измерить потенциал нитратного ионоселективного электрода на иономере И-160М.

Электродную пару погрузить в стаканчик и не ранее, чем через 1 мин. после прекращения заметного изменения показателей, снять показания прибора.

*Вычисление результатов анализа.* Активность ионов в пробе определить в  $pNO_3$  (отрицательный десятичный логарифм активности ионов) и по таблице 31 перевести в содержание нитратов в растительной пробе в мг/кг.

Содержание азота нитратов в растительном материале (в мг/кг сырой массы) при отношении пробы к экстрагирующему раствору 1:4 более точно можно вычислить по формуле:

$$X = \text{Antilog}(4,75 - pNO_3)$$

**Таблица 31** - Расчет содержания N-NO<sub>3</sub>, мг/кг сырой массы, при соотношении пробы и экстрагирующего раствора 1:4

$pNO_3$	мг/кг								
1,60	1412	2,25	316	2,90	71	3,55	16	4,20	4
1,65	1259	2,30	282	2,95	63	3,60	14	4,25	-
1,70	1122	2,35	251	3,00	56	3,65	13	4,30	-
1,75	1000	2,40	224	3,05	50	3,70	11	4,35	-
1,80	891	2,45	200	3,10	45	3,75	10	4,40	-
1,85	794	2,50	178	3,15	40	3,80	9	4,45	-
1,90	708	2,55	158	3,20	35	3,85	8	4,50	-
1,95	631	2,60	141	3,25	32	3,90	7	4,55	-
2,00	562	2,65	126	3,30	28	3,95	6	4,60	-
2,05	501	2,70	112	3,35	25	4,00	6	4,65	-
2,10	447	2,75	100	3,40	22	4,05	5	4,70	-
2,15	398	2,80	89	3,45	20	4,10	4	4,75	-
2,20	355	2,85	79	3,50	18	4,15	4	4,80	-

**Оформление работы.** Провести соответствующие расчеты и сделать выводы.

**Материалы и оборудование:** ступка, стаканчик на 100 см<sup>3</sup>, пестик, 1%-ный раствор алюмокалиевых квасцов, универсальный иономер И-160М, экотестер.

### *Вопросы и задачи для самоконтроля*

1. Что такое минеральное питание?
2. Какие элементы минерального питания нужны растению?
3. Откуда древесные растения усваивают азот?
4. Химический состав растений?
5. Какие элементы называются органогенами?
6. Какие микроорганизмы могут связывать атмосферный азот?
7. В каких частях растения более высокое содержание зольных элементов: в древесине или в листьях, в старых или молодых листьях? Как объяснить эти различия?
8. Какие элементы питания относят к микро-, а какие к макроэлементам?
9. При помощи каких микроорганизмов происходит минерализация органического азота?
10. Опишите подробно, как установить, имеет ли натрий существенное значение для высших растений?
11. Почему при возделывании растений на поливных землях следует применять повышенные дозы удобрений?
12. Какие из ниже перечисленных удобрений являются односторонними, какие двусторонними и какие многосторонними: калийная селитра, навоз, хлорид калия, печная зола, торф, фосфорнокислый аммоний, бура, аммиачная селитра, аммофос?
13. Д.Н. Прянишников установил, что урожай люпина повышается примерно одинаково как при внесении фосфорита  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , так и при внесении фосфата  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , тогда как овёс усиливал свой рост только при удобрении фосфатом, а при внесении фосфорита рос почти так же плохо, как и без фосфорных удобрений. Как объяснить результаты этого опыта?
14. Сколько суперфосфата с содержанием 7 % фосфора следует внести на делянку площадью  $5 \text{ м}^2$ , чтобы количество фосфора в расчёте на 1 га составило 14 кг?
15. Какое количество сернокислого аммония нужно внести в вегетационный сосуд, содержащий 2,7 кг почвы, исходя из нормы 0,08 г азота на 1 кг почвы?
16. Что такое антагонизм ионов?
17. Что такое синергизм ионов?

18. Что такое аддитивность?
19. Какие растворы называют уравновешенными?
20. Каково значение калия и кальция и в каком состоянии они находятся в растении?
21. Понятие о физиологически необходимых элементах?
22. Какое значение имеет бор, цинк, медь, марганец, молибден?
23. Способны ли железо и бор к реутилизации?
24. Как влияют внутренние и внешние условия на поступление элементов минерального питания?
25. Что такое внекорневая подкормка?
26. Ионный транспорт в растении?
27. Поступление и превращение соединений азота в растениях?
28. Какие листья обнаруживают более резко выраженные симптомы фосфорного голодания - верхние или нижние? С чем это связано?
29. Почему органические удобрения рекомендуется вносить в больших дозах и задолго до посева?
30. Для чего фосфор нужен растению?
31. В качестве основных питательных веществ сейчас выделены 16 элементов. Предполагаете ли вы, что в будущем к этому списку могут быть добавлены другие элементы? Если да, то почему они до сих пор ещё не были открыты?
32. Некоторые минеральные вещества считаются основными, так как они представляют собой составную часть главных органических молекул в растении. Назовите две важные органические молекулы, в состав которых входят: а) азот, б) фосфор, в) сера. Какую функцию выполняют остальные основные элементы, которые не входят в структуру органических молекул?
33. При полевом опыте в почву вносили азотные, фосфорные и калийные удобрения в разных сочетаниях и дозировках. Урожай высеянной на этом поле культуры оказался наивысшим (и примерно одинаковым) в двух вариантах: 1) N - 10, P - 15, K - 10 кг; 2) N - 15, P - 10, K - 15 кг/га. Какой из вариантов следует рекомендовать для практического использования?
34. Большинство растений растут лучше всего при использовании нитратов в качестве источника азота, но некоторые, по-видимому, предпочитают ион аммония. Что, по вашему мнению, является биохимической причиной

- этого различия в поведении растений?
35. Проследите путь иона калия по мере его продвижения из почвы к листу. Какие силы вовлечены в это движение?
  36. Рассмотрите несколько способов, с помощью которых можно определить степень обеспеченности данного растения основными минеральными элементами.
  37. Почва, богата фосфатом кальция, в действительности поставляет слишком много фосфора для оптимального роста растений. Объясните?
  38. Внесение удобрений под растения гороха, растущего на почве с азотной недостаточностью, может и не привести к существенному улучшению роста. Почему?
  39. Значение транспорта органических веществ для растений?
  40. Неблагоприятные действия на растение избыточно-высокого уровня минерального питания?
  41. Причины накопления избыточных количеств нитратов в растениях и пути их снижения в сельскохозяйственной продукции?
  42. Особенности нитратного и аммонийного питания растений?
  43. Радиальное перемещение ионов в корнях?
  44. Ритмичность в поглощении ионов корнями растений?
  45. Особенности питания растений в беспочвенной культуре?
  46. Минеральные вещества в фитоценозах и их круговорот в экосистеме?
  47. Влияние ризосферной микрофлоры на поглощение веществ?
  48. Восходящий транспорт растворенных веществ в растениях?
  49. Признаки недостатка элементов питания для растений?
  50. Факторы, влияющие на содержание того или иного элемента в тканях растений?

## VII. РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ

*Онтогенез* (от греч. «*on*», род падеж «*ontos*» - существо, лат. «*genesis*» - происхождение, процесс образования) – комплекс последовательных и необратимых изменений жизнедеятельности и структуры растений от возникновения до естественной смерти. В ходе онтогенеза реализуется наследственная информация организма в конкретных условиях окружающей среды, в результате чего формируется фенотип, т.е. совокупность всех признаков и свойств данного индивидуального организма. На рисунке 20 показаны этапы онтогенеза и фазы развития покрытосеменных растений. С *онтогенезом* тесно связаны понятия *рост* и *развитие*.

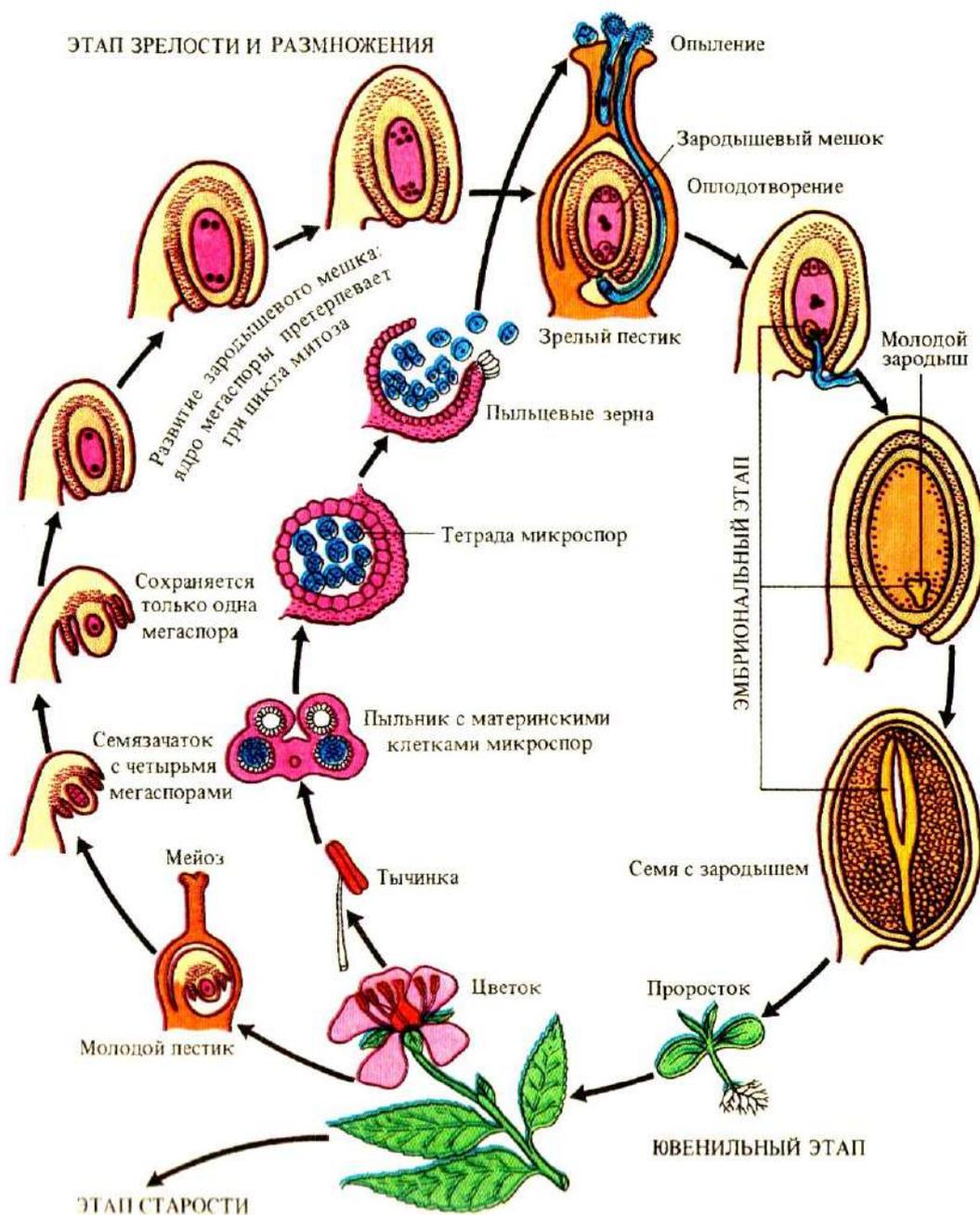
Рост и развитие растений – важнейшие процессы, определяющие величину, структуру и качество урожая. *Рост* растений – это необратимое увеличение размеров и массы, связанное с новообразованием элементов структуры организма. Он складывается из роста клеток, тканей и органов. *Развитие* растений – качественные изменения структуры и функций растения и его отдельных частей – органов, тканей и клеток, возникающее в процессе онтогенеза.

Каждая клетка в процессе роста проходит три фазы: *деления*, *растяжения* и *дифференциации*.

Общая закономерность роста – его неравномерность, или периодичность, обусловленная внутренними причинами. Вначале рост растения происходит медленно, затем быстрее и потом снова замедляется.

Рост растений происходит за счет деления и растяжения клеток стебля, корневой системы, листьев и плодовых органов. Ростовые процессы локализованы в меристемах. *Меристема* – это образовательная ткань с активно делящимися клетками. Верхушечная меристема стеблей и корней, благодаря которой они растут в длину, назы-

вается *апикальной*. Меристема, расположенная параллельно боковой поверхности того органа в котором она находится, называется *латеральной*. Благодаря этой меристеме происходит утолщение стебля и корня. *Интеркалярной* (вставочной) меристемой называется меристема, расположенная на некотором расстоянии от апикальной меристемы стебля, чаще всего в междоузлиях и в основании листьев злаков.



**Рисунок 20. Этапы онтогенеза и фазы развития покрытосеменных растений**

К числу важных внутренних факторов регуляции роста и развития растений относятся образующие в растении химические соединения с высокой физиологической активностью, называемые *фитогормонами*. Это ауксины, гиббереллины, цитокинины и ингибиторы роста (абсцизовая кислота и этилен). Для этих веществ характерно то, что образуются они в одних тканях и органах растения, а их физиологическое действие проявляется, как правило, в других тканях или органах.

Все органы растения взаимосвязаны и оказывают влияние друг на друга. Зависимость роста одной ткани от другой или роста одного органа от другого называют *коррелятивным ростом*. С ростовыми корреляциями тесно связана способность растительных организмов к *регенерации*, т.е. восстановлению утраченных частей.

Растения способны к определенной ориентировке своих органов в пространстве. Меняя ориентировку своих органов, растения реагируют на те или иные внешние воздействия. Движения отдельных органов растения связаны с ростом – *ростовые* – и с изменениями в тургорном напряжении отдельных клеток и тканей – *тургорные*.

Ростовые движения, в свою очередь, бывают двух типов:

- *тропические движения* или *тропизмы* - это движения, вызванные односторонним воздействием какого-либо фактора внешней среды (света, силы земного притяжения и др.);

- *настические движения* или *настии* – это движения, вызванные общим диффузным изменением какого-либо фактора (света, температуры и др.).

На рост и развитие растений влияют внешние факторы: интенсивность и спектральный состав света, продолжительность дня и ночи, температура и влажность воздуха и почвы, органические и минеральные удобрения.

## РАБОТА 45

### Наблюдение периодичности роста побега

Побег растет неравномерно. Вначале наблюдается медленный рост, затем скорость роста увеличивается, достигает максимума, снова замедляется, и наконец, рост прекращается. Таким образом наблюдается периодичность роста побега, которая характеризуется законом большого периода роста.

*Периодичность роста* проявляется в том, что междоузлия, образующиеся по мере нарастания побега, имеют неодинаковую длину. В большинстве случаев она увеличивается от основания к середине побега, где достигает максимума, а к верхушке побега опять уменьшается.

**Цель работы:** исследовать динамику роста тополя.

**Объект исследований:** одно- или двухлетний побег тополя (*Populus alba*).

**Ход работы.** Взять годичный побег тополя или кого-либо травянистого растения и измерить линейкой длину междоузлий..

**Оформление работы.** На основании полученных измерений заполнить таблицу 32, построить графики прироста междоузлий и побега и сделать вывод.

**Таблица 32** – Результаты измерения междоузлий побега

Номер междоузлия от основания побега	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	и т.д.
Междоузлия побега Длина междоузлия, см											

**Материалы и оборудование:** завершившие рост побеги травянистых или древесных растений, линейки.

## РАБОТА 46

### Выявление апикального доминирования у растений

Растения в отличие от животных растут на протяжении всей жизни, образуя новые ткани и органы, которые закладываются в эмбриональных зонах – *меристемах*. На концах главного и боковых побегов, а также кончиков корней всех порядков находятся апикальные меристемы. При этом очень часто верхушка основного побега подавляет развитие боковых побегов и не позволяет пробуждаться спящим почкам. Такое явление получило название – *апикальное доминирование*. Если удалить верхушку главного побега, то активизируется рост боковых побегов и пробуждаются спящие почки.

**Цель работы:** выявить апикальное доминирование у растений гороха.

**Объект исследований:** растения гороха посевного (*Pisum sativum*).

**Ход работы.** Взять сосуд с растениями гороха (из расчета 2 сосуда по 3-4 растения в каждом на одного студента). В одном сосуде растения оставляют не тронутыми (контроль), у других срезают верхушки побега. На следующем занятии растения в сосудах сравнивают, измеряя длину и подсчитывая боковые побеги.

**Оформление работы.** Рассчитывают средние значения и заносят их в таблицу 33, делают соответствующие выводы.

**Таблица 33 – Динамика роста побегов гороха**

Вариант опыта	Число боковых побегов, шт.	Длина боковых побегов, см	
		каждого	суммарная

**Материалы и оборудование:** сосуды с растениями гороха, скальпели, линейки.

## ***Вопросы для самоконтроля***

1. Объясните понятие онтогенез?
2. Дайте определение роста и развития растений?
3. Периодизация онтогенеза?
4. Классификация растений по продолжительности онтогенеза?
5. Регуляция роста и развития растений?
6. Фитогормоны как факторы, регулирующие рост и развитие растения?
7. Классификация фитогормонов?
8. Применение фитогормонов в практике растениеводства?
9. Механизм действия фитогормонов?
10. Движения растений (тропизмы)?
11. Движения растений (настии)?
12. Локализация роста у растений?
13. Клеточные основы роста растений?
14. Как происходят ростовые корреляции и регенерация?
15. В чем заключаются особенности роста стебля?
16. В чем заключаются особенности роста листа?
17. В чем заключаются особенности роста корней?
18. Зависимость роста от экологических факторов?
19. Теория циклического старения и омоложения растений?
20. Этапы развития растений?
21. Что такое яровизация, ее роль для озимых культур?
22. Что такое фотопериодизм?
23. Физиология старения растений?
24. Физиологические основы покоя растений?
25. Покой и прорастание семян?
26. Физиология формирования плодов, семян и других продуктивных частей растений?
27. Какие факторы влияют на рост растений?
28. Назовите методы измерения скорости роста?
29. Понятие о росте целостного организма?
30. Взаимодействие вегетативных и репродуктивных органов?

## VIII. ПРИСПОСОБЛЕНИЕ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ

Способность к защите от действия неблагоприятных абиотических и биотических факторов среды – столь же обязательное свойство любого организма, как питание, движение, размножение и др. на протяжении жизни каждого растительного организма в процессе эволюции выработались определенные потребности к условиям существования. При этом каждый организм обладает способностью к *адаптации*. *Адаптация* – приспособление организма к конкретным условиям существования, у индивидуума достигается за счет физиологических механизмов (*физиологическая адаптация*), а у популяции организмов – благодаря механизмам генетической изменчивости и наследственности (*генетическая адаптация*).

При воздействии на растение неблагоприятных условий в нем возникает напряженное состояние – *стресс*, сила которого зависит от скорости возникновения неблагоприятной ситуации и уровня стрессирующего фактора. При медленном развитии неблагоприятных факторов организм пытается приспособиться к ним, что может привести к повышению *устойчивости* организма (закаливание). *Закаливание* – это обратимое физиологическое приспособление к неблагоприятным воздействиям, происходящее под влиянием определенных внешних условий. Возможно проведение закаливания растений в искусственных условиях. При этом необходимо учитывать, что способностью к закаливанию обладают не все растения.

Факторы, вызывающие стресс у растений, подразделяют на три основные группы:

- 1) *физические* - недостаточная или избыточная влажность, освещенность, температура, радиация, механические воздействия;
- 2) *химические* – воздействие солей, газов, ксенобиотиков;

3) *биологические* - поражение возбудителями болезней или вредителями, конкуренция с другими растениями, влияние животных, цветение, созревание плодов.

Большое значение имеет *устойчивость*, основанная на выносливости клеток растений, т.е. способности в процессе адаптации перестраивать как скорость, так и направление метаболических реакций таким образом, чтобы и в изменившихся условиях среды вырабатывать все необходимые продукты. Устойчивость к каждому из неблагоприятных факторов определяется рядом физиолого-биохимических особенностей организма.

Устойчивость растения к стрессовому воздействию зависит от фазы его развития в период действия неблагоприятных условий. Наибольшей устойчивостью обладают растения, находящиеся в состоянии покоя.

Резкие и длительные воздействия неблагоприятных факторов могут приводить к нарушению многих функций растения, а часто даже к гибели.

## **РАБОТА № 47**

### **Определение жаростойкости растений (по Мацкову)**

При действии высоких температур растение угнетается, а потом погибает. Если подвергнуть лист действию высокой температуры, а затем погрузить в слабый раствор соляной кислоты, поврежденные и мертвые клетки побуреют вследствие свободного проникновения в них кислоты, которая вызовет превращение хлорофилла в феофитин, тогда как неповрежденные клетки останутся зелеными. У растений с кислым клеточным соком феофитинизация может произойти и без обработки соляной кислотой, так как при нарушении полупроницае-

мости тонопласта органические кислоты проникают из клеточного сока в цитоплазму и вытесняют магний из молекул хлорофилла.

**Цель работы:** определить влияние высокой температуры на степень повреждения листа.

**Объект исследований:** свежие листья различных растений.

**Ход работы.** Нагреть водяную баню до 40 °С, погрузить в нее по 5 листьев исследуемых растений. Выдержать листья в воде в течение 30 мин, поддерживая температуру на уровне 40 °С. Затем по одному листу каждого вида растения поместить в чашку Петри с холодной водой. Подогреть воду в водяной бане до 50 °С и через 10 мин после этого извлечь еще по одному листу и поместить их в другую чашку с холодной водой. Так постепенно довести температуру до 80°С, отбирая пробы через каждые 10 мин при повышении температуры на каждые 10 °С.

Заменить воду в чашках 0,2 н. соляной кислотой и через 20 мин учесть степень повреждения листа по количеству появляющихся бурых пятен. Результаты записать в таблицу 21, обозначив отсутствие побурения знаком «-», слабое побурение – «+», побурение более 50 % площади листа – «++» и сплошное побурение – «+++».

**Оформление работы.** Полученные данные занести в таблицу 34. Сделать выводы о степени жаростойкости исследованных растений.

**Таблица 34 – Влияние высокой температуры на степень повреждения листа**

Объект	Степень повреждения листа при температуре, °С				
	40	50	60	70	80

**Материалы и оборудование:** свежие листья каких-либо растений, 0,2 н. раствор соляной кислоты, водяная баня, термометр, пинцет, чашки Петри (5 шт.), стакан с водой, карандаш по стеклу, часы.

## РАБОТА 48

### Защитное действие сахаров на протоплазму при замораживании

При замерзании растительных тканей в межклетниках образуются кристаллы льда, которые оттягивают воду от протоплазмы. В результате протопласт обезвоживается. При определенной степени обезвоживания, а также под действием механического давления кристаллов льда протопласт коагулирует.

В результате механического воздействия кристаллов льда нарушается внутренняя структура протопласта, резко повышается ее проницаемость, а при длительной экспозиции на морозе наступает ее отмирание. О степени повреждения протопласта можно судить по ее способности удерживать клеточный сок. Увеличение количества растворимых сахаров в зимующих органах растений повышает вододерживающую способность тканей.

**Цель работы:** установить значение сахара как защитного вещества.

**Объект исследований:** корнеплоды красной свеклы (*Beta vulgaris*).

**Ход работы.** Из поперечного среза красной свеклы толщиной 0,5 см при помощи пробочного сверла диаметром 5-6 мм сделать высечки. Тщательно промыть их водой. Взять три пробирки и перенести по три-четыре высечки в каждую. В первую пробирку налить 5 мл дистиллированной воды, во вторую – 5 мл 0,5 М раствора сахарозы, в третью – 5 мл 1М раствора сахарозы. Снабдить пробирки этикетками.

Затем готовят охлаждающую смесь, состоящую из трех частей льда или снега и одной части поваренной соли. Помещают пробирку в эту смесь на 20 мин. После пробирки вынимают и размораживают в стакане воды комнатной температуры.

После размораживания отметить различия в интенсивности окрашивания жидкостей в пробирках и объяснить их.

Затем из анализируемых высечек сделать тонкие срезы и рассмотреть их под микроскопом в капле того же раствора, в котором они находились. Подсчитать общее число клеток в одном поле зрения и число обесцвеченных клеток (без антоциана).

**Оформление работы.** Результаты записать в таблицу 35, сделать вывод о защитном действии сахара на цитоплазму.

**Таблица 35 – Определение защитного действия сахаров на цитоплазму**

Условия опыта	Число клеток в поле зрения микроскопа		Окрашенных клеток от общего количества, %	Вывод
	всего	окрашенных		
Вода				
Сахароза 0,5 М				
Сахароза 1 М				

**Материалы и оборудование:** корнеплоды красной свеклы, 0,5 и 1 М растворы сахарозы, поваренная соль, лед или снег, скальпели, пробочные сверла диаметром 6 мм, пробирки, микроскопы, предметные стека, фильтровальная бумага, лопатки для охладительной смеси, лезвие, карандаши по стеклу, дистиллированная вода, термометр.

## РАБОТА 49

### Повреждающее действие аммиака на цветки и листья растений

Промышленные выбросы причиняют большой вред сельскохозяйственным культурам, лесам, зеленым насаждениям. Они вызыва-

ют нарушение ассимилирующего аппарата зеленых растений: происходит разрушение цитоплазмы клеток, хлоропластов, изменяется окраска листьев и цветков, нарушается деятельность устьичного аппарата, возникает некроз и их последующее отмирание.

Особенно опасны газообразные ингредиенты, такие, как сернистый газ, фтор, фтористый водород, аммиачные соединения.

**Цель работы:** определить повреждающее действие аммиака на листья и цветки комнатных растений.

**Объект исследований:** растения традесканции (*Tradescantia virginica*).

**Ход работы.** Взять стеклянный колпак и поместить под него стаканчик с 10 %-м раствором  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Срезать листья и цветки у растения с ярко-антоциановой окраской (традесканция, герань) и поместить их под стеклянный колпак. Через 1 час снять колпак и наблюдать изменение окраски цветков и листьев. Цвет изменяется в зависимости от изменения рН клеточного сока от выделения газообразных паров аммиака. При большей экспозиции опыта растения погибают.

**Оформление работы.** Сделать выводы по результатам опыта.

**Материалы и оборудование:** листья и цветки традесканции или герани, ножницы, стеклянные колпаки, 10 %-й раствор  $\text{NH}_4\text{OH}$ , стеклянные стаканы.

## РАБОТА 50

### Определение аскорбиновой кислоты

Аскорбиновая кислота принимает активное участие в окислительно-восстановительных процессах в клетке, благоприятно действует на углеводный и белковый обмены, метаболизм аминокислот,

активизирует деятельность ряда ферментов. При недостатке витамина С нарушается обмен липидов, в тканях накапливаются свободные жирные кислоты.

В научной литературе есть данные о том, что содержание аскорбиновой кислоты в тканях коррелирует с морозоустойчивостью и другими видами стойкости растений.

Растения синтезируют аскорбиновую кислоту в своём организме из глюкозы. Отдельные растения (плоды шиповника, плоды незрелого грецкого ореха и др.) отличаются особенно высоким содержанием витамина С.

**Цель работы:** ознакомиться с методом определения аскорбиновой кислоты в различных органах растений.

**Объект исследований:** плоды яблони (*Malus domestica*) или шиповника (*Rosa canina*).

**Ход работы.** Берут навеску 3-5 г растительного материала, тщательно растирают в фарфоровой ступке с песком. Во время растирания приливают 20 мл воды и всю смесь количественно переносят в мерную колбу на 50 или 100 мл, споласкивают ступку водой. Затем раствор фильтруют в сухой стаканчик или колбу.

Отбирают в конические колбы ёмкостью 100 мл 10 мл фильтрата, приливают 1 мл 2 %-ной  $\text{HCl}$ , 0,5 мл раствора йодистого калия и 2 мл 0,5 %-ного раствора крахмала.

Смесь разбавляют водой примерно до 20 мл, перемешивают и титруют 0,01 н. раствором йодата калия до устойчивого синего окрашивания.

Параллельно ведут контрольное титрование смеси применявшихся реактивов (вместо 10мл фильтрата берут 10мл воды).

Все операции по определению аскорбиновой кислоты следует проводить быстро.

Содержание аскорбиновой кислоты вычисляется по следующей формуле:

$$A = \frac{(a-b) \cdot 0,0881 \cdot V}{n}$$

где  $A$  – содержание аскорбиновой кислоты в мг/г растительной массы;

$a$  – количество йодата калия, пошедшее на титрование опытного образца;

$b$  – количество йодата калия, пошедшее на титрование контрольного образца;

$0,0881$  – поправка к титру йодата калия;

$V$  – разбавление (0,2);

$n$  – навеска растительного материала, г .

**Оформление работы.** Результаты записать в таблицу 36, сделать вывод о содержании аскорбиновой кислоты в плодах яблони и шиповника.

**Таблица 36 - Содержание витамина С в плодах шиповника**

Объекты	Время определения	Повторность	Навеска, г.	КЮ <sub>3</sub> пошедший на титрование, мл.		Содержание аскорбиновой кислоты, мг/г растительной массы
				опыт	контроль	

**Материалы и оборудование:** весы технические с разновесами; фарфоровая ступка; песок, мерные колбы на 50мл; пипетки на 1мл; 2%-ный раствор соляной кислоты; 0,5%-ный раствор крахмала; 1%-ный раствор йодистого калия; дистиллированная вода; бумажные фильтры; бюретки.

## *Вопросы для самоконтроля*

1. Что такое стресс?
2. Назовите факторы, вызывающие стресс у растений?
3. Что такое адаптация?
4. Следующие факторы могут, очевидно, влиять на географическое распространение данного вида растений: а) среднегодовая температура, б) минимальная ночная температура, в) максимальная дневная температура, г) максимальная ночная температура, д) общее число дней с отрицательной температурой. Какие из этих факторов играют главную роль? Почему?
5. В чём первичная причина повреждения растений морозом? Как сделать растения более устойчивым к воздействию низких температур? Чем предположительно определяется эта возросшая устойчивость?
6. Какими механизмами располагают растения для защиты от: а) конкурирующих с ними растений, б) паразитных грибов, в) растительноядных насекомых?
7. Некоторым растениям удаётся избежать конкуренции с другими растениями с помощью аллелопатии. Поясните смысл этого термина и расскажите, как осуществляется такого рода воздействия.
8. Что означает термин «вторичные метаболиты»? Как возникло это название? Какова вероятная роль этих веществ у растений?
9. Растения вырабатывают много токсических соединений, которые служат им средством защиты от растительноядных животных. Почему эти яды никак не влияют на их собственный метаболизм?
10. Что представляют собой фитоалексины и какова их роль в устойчивости растений к болезням?
11. Чем различаются понятия морозо- и зимостойкости?
12. Какое значение имеет накопление сахара в растении для его морозостойкости?
13. Что более опасно для растений: зимние морозы или весенние заморозки? Объясните.
14. В чём заключается прямое и косвенное действие высоких температур на растение?

15. Что такое закаливание зимующих растений? Какие фазы закаливания различают у древесных пород?
16. Почему в первой фазе закаливания нужны свет и низкая положительная температура?
17. Что такое периодичность роста растений?
18. Как можно повысить засухоустойчивость растений?
19. Какие вещества в растении в экстремальных условиях способствуют возникновению защитно-приспособительных реакций?
20. В чём суть закона Заленского?
21. На какие группы делятся солеустойчивые растения и каковы их физиологические особенности.
22. Опишите две причины, вызывающие покой семян; каковы способы прерывания покоя, обусловленного каждой из этих причин?
23. Какова роль абсцизовой кислоты в регуляции скорости транспирации?
24. Что подразумевают под «законом убывающего плодородия почвы»? как он влияет на сельскохозяйственную практику?
25. Дайте научное объяснение: а) применения света для регулирования цветения хризантем, б) опрыскивания винограда гиббереллином, с) хранения плодов в атмосфере этилена или при высокой концентрации  $\text{CO}_2$ .
26. Объясните, почему культура клеток и тканей растений занимает определенное место в сельском хозяйстве и садоводстве.
27. Что представляют собой фитоаллексены и какова их роль в устойчивости растений к болезни?
28. Как преодолевают растения воздействие неблагоприятных внешних условий: а) низких температур, б) засухи?
29. Какие проблемы возникают в связи с ростом растений во время длительных космических полетов и, какую пользу могут принести растения в этих полетах?
30. Представьте, что агроном выращивает в поле картофель (или сахарную свеклу, или пшеницу). Если бы это было возможно, то какой метаболический процесс (или процессы) в данном растении следовало бы, по вашему мнению, подавить или замедлить, а какой – ускорить, чтобы получить более высокий урожай на бедной почве? Объясните.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Агрохимия [Текст] : учебники для вузов / Б. А. Ягодин [и др.] ; под ред. Б.А. Ягодина. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : Агропромиздат, 1989. - 639 с.
2. Блукент, Н.А. Ботаника с основами физиологии растений и микробиологии [Текст] / Н.А. Блукет, В.Т. Емцев. – Москва : Колос, 1969. – 512 с.
3. Викторов, Д.П. Малый практикум по физиологии растений [Текст] : учебное пособие для биол. спец. Вузов / Д.П. Викторов. – 3-е изд., перераб. и доп. - Москва : Высшая школа, 1983. – 135 с.
4. Гэлстон, А. Жизнь зеленого растения [Текст] / А. Гэлстон, П. Девис, Р. Сэттер; пер. с англ. М. Г. Дуниной, Е. И. Кошкина. – Москва : Мир, 1983. – 552 с.
5. Лабораторный практикум по биохимии : учебное пособие / Н. А. Жеребцов [и др.]. - Воронеж : Воронеж. гос. технол. академия, 2000. - 138с.
6. Комов, В.П. Биохимия [Текст] : учебник для вузов / В.П. Комов, В.Н. Шведова. – 3-е изд., стереотип. – Москва : Дрофа, 2008. – 638 с.
7. Кретович, В.Л. Биохимия растений [Текст] : учебник -/ В.Л. Кретович. - 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Высшая школа, 1986. – 503 с.
8. Кретович, В.Л. Биохимия зерна [Текст] : учебник / В.Л. Кретович. – Москва : Наука, 1981. – 251 с.
9. Лебедев, С.И. Физиологи растений [Текст] / С.И. Лебедев. - 3-е изд., перераб. и доп. – Москва : Агропромиздат, 1988. – 544 с.

10. Ленинджер, А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функции клетки [Текст] / А. Ленинджер ; пер. с англ. ; под ред. . А.А. Баева, Я.М. Варшавского. – Москва : Мир, 1974. – 956 с.
11. Летние практические занятия по физиологии растений. Полевая практика [Текст] / Ф.Д. Сказкин [и др.]; под ред. М.С. Миллер. – Изд. 3-е, перераб. – Москва : Просвещение, 1973. – 208 с.
12. Либберт, Э. Физиология растений [Текст] : учебник / Э. Либберт ; под ред. и с предисл. В.И. Кефпер ; пер. с нем. Д.П. Викторова, Н.С. Гельман. – Москва : Мир, 1976. – 580 с.
13. Методы биохимических исследований [Текст] / под ред. А.И. Ермакова. - 2-е изд., перераб. и доп. – Ленинград : Колос, 1972. – 456с.
14. Морозов, А.С. Физиология растений и биологическая химия [Текст] : методические указания и задания к лабораторным и практическим занятиям для студентов-заочников сельскохозяйственных вузов по агрономическим специальностям / А.С. Морозов. – Москва : ВСХИЗО, 1974. – 72 с.
15. Плешков, Б.П. Биохимия сельскохозяйственных растений [Текст] : учебник / Б.П. Плешков. – Москва : Колос, 1980. – 495 с.
16. Плешков, Б.П. Практикум по биохимии растений [Текст] : учебное пособие / Б.П. Плешков. – Москва : Колос, 1985. – 255 с.
17. Полевой, В.В. Физиология растений [Текст] / В.В. Полевой. – Москва : Высшая школа, 1989. – 404 с.
18. Викторов, Д.П. Практикум по физиологии растений / Д.П. Викторов, под общ. ред. А.А. Землянухина. – Воронеж : Изд-во Воронеж. ун-та, 1991. - 157с.
19. Практикум по физиологии растений [Текст] / под ред. проф. И.И. Гунара. – Москва : Колос, 1972. – 168 с.

20. Рубин, Б.А. Курс физиологии растений [Текст] / Б.А. Рубин. - 4-е изд., перераб. и доп. – Москва : Высшая школа, 1976. – 576 с.
21. Сакс, А.И. Практикум по физиологии и биохимии растений для агрономов [Текст] / А.И. Сакс, Т.К. Мельник. – 2-е изд. – Новосибирск : [б.и.], 1962. – 195 с.
22. Сказкин, Ф.Д. Практические занятия по физиологии растений [Текст] / Ф.Д. Сказкин, Е.И. Ловчинская ; под ред. Ф.Д. Сказкина. - 3-е изд., испр. и доп. - Москва : Советская наука, 1948. - 379 с
23. Тарасенко, С.А. Физиология и биохимия растений. Практикум : учеб. пособие [Текст] / С.А. Тарасенко, Е.И. Дорошкевич ; Гродненский государственный аграрный университет. – Гродно: ГГАУ, 2004. – 212 с.
24. Практикум по физиологии растений [Текст] : учебное пособие / Н.Н. Третьяков [и др.]. – Москва : КолосС, 2003. – 288 с.
25. Федоров, Н.И. Лабораторно-практические занятия по физиологии растений и биохимии для студентов агрономических специальностей [Текст] / Н.И. Федоров, Ю.В. Киселева. – Саратов : ССХИ, 1979. – 79 с.
26. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений [Текст] / под ред. Н.Н. Третьякова. – Москва : Колос, 2000. – 640 с.
27. Якушкина, Н.И. Физиология растений [Текст] : учебное пособие / Н.И. Якушкина. – Москва : Просвещение, 1980. – 303 с.

**ПРИЛОЖЕНИЕ А**

**Рефрактометрические показатели, концентрация и осмотическое давление сахарозы (для рефрактометра РПЛ)**

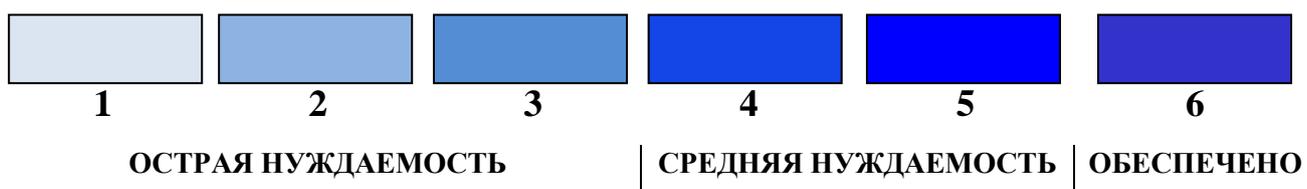
Показатель шкалы рефрактометра	Концентрация сахаров, %	Осмотическое давление, КПа
1	2	3
10,0	3,43	271,5
10,1	3,46	274,5
10,2	3,50	276,5
10,3	3,53	279,6
10,4	3,57	282,6
10,5	3,60	284,6
10,6	3,63	287,6
10,7	3,67	290,7
10,8	3,70	292,7
10,9	3,74	298,8
11,0	3,77	300,8
11,1	3,80	303,9
11,2	3,84	306,9
11,3	3,87	309,0
11,4	3,91	312,0
11,5	3,94	315,0
11,6	3,97	317,0
11,7	4,01	420,0
11,8	4,04	323,1
11,9	4,08	325,2
12,0	4,11	328,2
12,1	4,14	331,2
12,2	4,18	334,3
12,3	4,21	337,3
12,4	4,24	340,4
12,5	4,27	342,4
12,6	4,31	345,4
12,7	4,34	348,5
12,8	4,37	350,5
12,9	4,41	353,6
13,0	4,44	357,6
13,1	4,47	358,6
13,2	4,51	361,6
13,3	4,54	364,7
13,4	4,57	366,7
13,5	4,61	368,7
13,6	4,64	371,7

1	2	3
13,7	4,67	373,8
13,8	4,70	376,8
13,9	4,74	379,9
14,0	4,77	381,9
14,1	4,80	384,9
14,2	4,84	387,9
14,3	4,87	390,0
14,4	4,91	393,0
14,5	4,94	396,1
14,6	4,97	398,1
14,7	5,01	400,1
14,8	5,04	403,2
14,9	5,08	405,2
15,0	5,11	408,2
15,1	5,14	411,3
15,2	5,18	413,3
15,3	5,21	416,3
15,4	5,24	419,4
15,5	5,28	421,4
15,6	5,31	424,5
15,7	5,34	427,5
15,8	5,37	429,5
15,9	5,41	432,5
16,0	5,44	435,6
16,1	5,47	437,6
13,2	5,51	440,6
16,3	5,54	443,7
16,4	5,57	445,7
16,5	5,61	448,8
16,6	5,64	451,8
16,7	5,67	453,8
16,8	5,70	456,9
16,9	5,73	459,9
17,0	5,77	461,9
17,1	5,80	464,9
17,2	5,83	468,0
17,3	5,87	470,0
17,4	5,90	473,1
17,5	5,93	476,1
17,6	5,96	478,1
17,7	5,99	480,2
17,8	6,03	483,2

1	2	3
17,9	6,06	485,2
19,1	6,45	515,6
18,0	6,09	488,3
18,1	6,12	491,3
18,2	6,16	493,3
18,3	6,19	495,4
18,4	6,22	498,4
18,5	6,26	500,4
18,6	6,29	503,5
18,7	6,32	506,5
18,8	6,35	508,5
18,9	6,39	510,5
19,0	6,42	513,6
19,2	6,48	518,6
19,3	6,52	521,7
19,4	6,55	523,7
19,5	5,58	525,7
19,6	6,61	528,8
19,7	6,64	530,8
19,8	6,68	533,8
19,9	6,71	536,9
20,0	6,74	538,9
20,1	6,77	541,9
20,2	6,81	545,0
20,3	6,84	547,0
20,4	6,87	551,1
20,5	6,91	555,1
20,6	6,94	558,2
20,7	6,97	561,2
20,8	7,00	663,2
20,9	7,04	566,3
21,0	7,07	569,3
21,1	7,10	571,3
21,2	7,14	574,4
21,3	7,17	577,4
21,4	7,20	580,5
21,5	7,24	582,5
21,6	7,27	585,5
21,7	7,30	587,5
21,8	7,33	590,6
21,9	7,37	593,6
22,0	7,40	595,6

**ШКАЛЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ  
ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В РАСТЕНИЯХ**

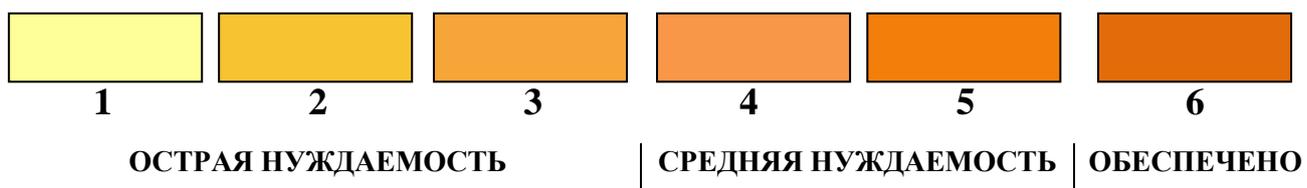
**1. ШКАЛА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ NO<sub>3</sub> (В БАЛЛАХ)**



**2. ШКАЛА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (В БАЛЛАХ)**



**3. ШКАЛА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ K<sub>2</sub>O (В БАЛЛАХ)**



Учебное издание

# ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

Учебное пособие

Составители: **Гужвин** Сергей Александрович,  
**Кумачева** Валентина Дмитриевна,  
**Каменев** Роман Александрович

Макетирование С.А. Гужвин

Подписано в печать  
Тираж 500 . Заказ № Усл. печ.10,7  
Издательство Донского государственного аграрного университета  
346493, Донской ГАУ, пос. Персиановский, Октябрьский район,  
Ростовская область