

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Нижегородский государственный архитектурно-строительный университет»
(ННГАСУ)

Кафедра ландшафтной архитектуры и садово-паркового строительства

МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ

Методические указания для выполнения лабораторных работ по
дисциплине «Физиология растений» для студентов очной формы обучения
по направлению подготовки 35.03.10 «Ландшафтная архитектура»

Нижний Новгород
ННГАСУ
2014

УДК 581.1 (076.5)

Минеральное питание растений. Методические указания для выполнения лабораторных работ по дисциплине «Физиология растений» для студентов очной формы обучения по направлению подготовки 35.03.10 «Ландшафтная архитектура» - Н. Новгород: Нижегородский государственный архитектурно-строительный университет, 2014. – 27 с.

Методические указания разработаны для студентов 1 курса очной формы обучения, изучающих общий курс «Физиология растений». В методических указаниях приводится описание лабораторных работ по разделу «Минеральное питание растений». Для каждой работы приведены указания о ее выполнении, перечислены материалы и оборудование.

Составитель доц. Н.М. Юртаева.

Содержание

Раздел 1. Роль минерального питания в жизни растений.....	4
Работа 1. Определение общей и рабочей адсорбирующей поверхности корневой системы методом Сабинина и Колосова.....	6
Работа 2. Определение смещения рН питательного раствора корневой системой растений.....	9
Работа 3. Выращивание растений в водной культуре на полной питательной среде и исключением отдельных элементов. (Приготовление питательных смесей и закладка опыта).....	12
Работа 4. Влияние исключения N, P, K на рост и развитие растений. (Учет результатов эксперимента).....	14
Работа 5. Анализ сока растений с помощью полевой лаборатории Магницкого.....	15
Работа 6. Микрохимический анализ золы растений.....	22
Литература.....	26

РАЗДЕЛ I. РОЛЬ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ В ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ.

Для нормальной жизнедеятельности растению необходимы минеральные вещества, которые выполняют в клетке целый ряд структурных и регуляторных функций:

- во-первых, они входят в состав биологически важных органических веществ;
- во-вторых, участвуют в создании определенной ионной концентрации, стабилизации макромолекул и коллоидных частиц;
- в-третьих, участвуют в каталитических реакциях, входя в состав или активируя отдельные ферменты;
- в-четвертых, они являются факторами, непосредственно влияющими на обмен веществ и внутреннюю архитектонику клеток, на строение и состояние цитоплазмы.

Минеральные вещества поступают из почвы вместе с водой и транспортируются с восходящим потоком преимущественно по ксилеме. При этом поглощение минеральных веществ клетками корня – процесс избирательный. Минеральные вещества обычно накапливаются в тех клетках, где в них возникает потребность. Такая избирательность регулируется как обладающими различной проницаемостью мембранами, так и локализованными в них ионными насосами, действующими за счет метаболической энергии.

Для удовлетворения потребности растения в минеральных элементах, необходимых для роста и развития, в почве должно содержаться достаточное их количество, причем в форме, доступной для поглощения клетками корня. Почва должна быть хорошо азрирована, и, наконец, в растении необходимо функционирование транспортной системы, доставляющей минеральные вещества к потребляющим клеткам

К основным источникам минерального питания относятся азот, фосфор и калий.

Азотное питание растения получают из:

А) минеральных азотных соединений (NH_4^+ , NO_3^-), образующихся в почве при микробиологических процессах;

Б) вносимых в почву минеральных соединений азота;

В) органических удобрений;

Г) азотных соединений, получаемых при фиксации атмосферного молекулярного азота симбиотическими и свободноживущими микроорганизмами.

Основной запас азота в почве находится в форме перегноя (гумуса), который содержит и другие элементы питания растений. Перегной определяет благоприятные физические свойства почвы и играет существенную роль в регуляции водного режима и продукции углекислого газа. Он создает потенциальное плодородие почв, следовательно, сохранение и увеличение - важнейшая задача земледелия.

Особо важную роль в обмене веществ, росте и развитии растений принадлежит фосфору. Минеральный фосфор в почве находится преимущественно в виде трудно растворимых фосфатов, мало доступных корням растений. Доступными они становятся в результате деятельности корневых систем растения и почвенных микроорганизмов. Растения способны усваивать и некоторые простые органические соединения:

фосфорные эфиры сахаров, спиртов (в частности, фитин, содержащий до 23 % фосфора). Важный источник фосфорного питания – фосфорные удобрения, вносимые извне (суперфосфат, преципитат, томасшлак, аммофос и др.).

Калий является типично мобильным элементом, жизненно необходимым растениям. Поскольку мембраны многих клеток легко проницаемы для калия, через них обычно проходят большие

дифференциальные потоки этого элемента. Мировые запасы калия огромны, его месторождения встречаются повсюду. Мировой океан обладает колоссальными запасами калийных солей. Калий широко распространен в природе в форме многочисленных руд и минералов. Однако, до 95% калия, находящегося в почве, недоступно растениям. Запасы калия в почве пополняются внесением калийных удобрений (минеральных солей, золы, травяных настоев).

Дефицит или исключение любого из элементов (азот, фосфор, калий) приводит к изменению структур и обмена веществ в растениях, торможению их роста и в последующем – гибели.

Работа 1. Определение общей и рабочей адсорбирующей поверхности корневой системы методом Сабинина и Колосова.

Введение. Одно из важнейших характеристик состояния корневой системы является ее масса и поглощающая поверхность. Считается, что в интервале между апикальной и базальной частями корня активное поглощение меняется и выделяется специальная поглощающая зона корня. Поэтому важно определить как общую, так и рабочую поверхность корня. Установлено, что первичным актом поглотительного процесса адсорбция, поэтому был разработан метод определения общей поверхности корней, включающий рабочую и недейтельную зоны.

Большинство поглощаемых корнем веществ не только адсорбируются, но и десорбируются с его поверхности. Размеры десорбции будут более значительными на тех участках корня, где отсутствует или замедлен транспорт веществ внутрь корня. В качестве поглощаемого вещества, которое можно легко определить калориметрически, используют метиленовую синь (МС). Установлено, что

1 мг МС при мономолекулярной адсорбции покрывает 1,05 м² поверхности адсорбента.

Зная исходную концентрацию раствора МС до и после в ней экспозиции корней, по разности можно определить, какое количество миллиграммов МС адсорбировалось корневой системой. Величину поглощающей поверхности корней находят, умножая количество МС на 1,05 м².

МС проникает в клетки эпидермиса в течение 90 сек. При двукратном погружении корней (по 1,5 мин.) в раствор МС происходит адсорбция красителя на деятельной и недеятельной поверхности корней. При третьем погружении корней в раствор МС поглощается только деятельной (рабочей) поверхностью корня. Следовательно, по изменению концентрации МС в двух первых бюксах рассчитывается общая поверхность корневой системы, а результаты третьего определения дают представление о величине рабочей поглощающей поверхности.

Концентрацию МС определяют колориметрически на электрофотокалориметре. Калибровочную кривую для количественного определения МС делают заранее.

Материалы и оборудование: 1) аналитические весы; 2) ножницы; 3) 0,0003 Н раствор МС (на 1 л воды 112,0 МС, подсушенной при 95-100 град. С); 4) 0,2 М раствор CaCl₂ (22,2 г/л); 5) бюксы или стаканы на 25-50 мл (4 шт.); 6) фотоэлектрокалориметр; 7) калибровочная кривая для МС в интервале 1-12 мг/л; 8) фильтровальная бумага; 9) 10-14-дневные проростки овса.

Ход работы. Для работы используют корни растений, выращенные в водной культуре на полной питательной среде. Вначале определяют объем корней методом вытеснения ими воды в мерном цилиндре или используют их сырую массу, предварительно взвешивая обсушенные

фильтровальной бумагой корни на аналитических весах. Затем в три бюкса наливают 0,0003 нормальный раствор МС, объем которого должен быть примерно в 10 раз больше, чем объем корней. В четвертый бюкс наливают 0,2 М раствор CaCl_2 . Слегка обсушив корни фильтровальной бумагой, последовательно погружают их в три бюкса с раствором МС на 1,5 мин. После каждого погружения раствор МС должен стечь в тот же бюкс.

Уменьшение концентрации МС при погружении в ее раствор корней определяют путем сравнения найденной для каждого бюкса концентрации с ее исходным значением (без корней), то есть с 0,0003 Н раствором (112,0 мг/л МС, молекулярная масса МС с тремя молекулами воды равна 373, 68 г), предварительно разбавленным в 10 раз. Разбавление МС перед установлением ее концентрации повышает точность определения.

По учету количества поглощенной МС в первых двух бюксах определяют общую адсорбирующую поверхность корней (A). МС, поглощенная в третьем бюксе, характеризует рабочую адсорбирующую поверхность (A_p). Разница между общей и рабочей адсорбирующими поверхностями дает величину недействительной поверхности корней ($\text{НПК} = A_0 - A_p$). Частное от деления величин общей и рабочей поверхности на объем или сырую массу корней (в г) соответствует величинам удельной адсорбирующей поверхности корней ($A_{y0} = A_0/M_{\text{сыр.}}$; $A_{yp} = A_p/M_{\text{сыр.}}$; $\text{НПК}_y = \text{НПК}/M_{\text{сыр.}}$).

Окрашенные корни после извлечения из третьего бюкса, промывают водой, подсушивают фильтровальной бумагой и помещают в четвертый бюкс с 0,2 М раствором CaCl_2 . МС, несущая положительный заряд, в результате обменной адсорбции ионов Ca^{2+} выделяется из корней и окрашивает раствор в синий цвет.

Результаты опытов в трех повторностях записывают в таблицу 1, выполняют соответствующие расчеты и заносят их в таблицу. На основе

полученных результатов делают выводы об адсорбирующей поверхности корней.

Таблица 1.

Определение адсорбирующей поверхности корней.

№ Серии опытов	№ Бюкса	Объем раствора МС в бюксе	Количество МС в бюксе, мг			Адсорбирующая поверхность, м ²						
			До погружения корней	После погружения корней	Поглощенной	А _О	А _Р	НПК	Удельная			
									А _{УО}	А _{УР}	НПК _У	
1	1											
	2											
	3											
2	1											
	2											
	3											
3	1											
	2											
	3											

Работа 2. Определение смещения рН питательного раствора корневой системой растений.

Введение. Корни растений способны активно смещать реакцию среды небуферных растворов в результате постоянного выделения цитоплазмой Н⁺ ионов, амфолитоидных свойств цитоплазмы, выделения органических кислот из клеток, ионообменных свойств пектоцеллюлозных клеточных стенок. С точки зрения физиологических процессов, это явление обусловлено дыханием корней, а также микробиологическими процессами, протекающими в ризосфере. Смещение рН прикорневой зоны может

достигать значительных величин, соответствуя изменению концентрации H^+ на два-три порядка.

Материалы и оборудование. 1) стеклянные стаканы объемом 200 мл (4 штуки); 2) обычные пробирки (4 штуки) в штативе; 3) широкие пробирки (12 штук) в штативе; 4) пипетки на 1 мл; 5) градуированные пипетки на 10 мл; 6) рН-метр; 7) стеклянные палочки; 8) аналитические весы; 9) 0,01 н раствор NaOH; 10) 0,01 н раствор HCl; 11) $CaNO_2$ безводный; 12) KH_2PO_4 ; 13) KCl; 14) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 15) $FeCl_6$ (следы, можно не вносить, а использовать водопроводную воду); 16) 15-дневные проростки растений пшеницы; 17) колба объемом 1,5-2 л; 18) мерный цилиндр на 1 л; 18) универсальный индикатор в растворе; 19) шкала Алямовского; 20) карандаш по стеклу.

Ход работы. Сначала готовят жидкую питательную смесь Кнопа для выращивания растений в водной культуре объемом 1 л. Для чего растворяют 4 соли (см. таблицу 1) в отдельном стаканчике, затем переливают полученные растворы в мерный цилиндр, доводя водопроводной водой общий объем до 1 л. выливают готовую смесь в большую колбу.

Затем готовят растворы питательной смеси Кнопа с величиной рН 5,0; 6,0; 7,0; 7,8. Для этого в четыре обычные пробирки наливают по 5 мл смеси Кнопа с помощью пипетки и в каждую добавляют 4-5 капель универсального индикатора. Для получения заданных значений рН в пробирки добавляют по каплям растворы с помощью пипеток 0,01 н HCl или NaOH до появления окраски, соответствующей стандартной шкале Алямовского (цветная шкала для приблизительного определения величины рН растворов).

Далее в большие пробирки (по три повторности на каждый вариант величины рН) наливают по 40 мл питательной смеси Кнопа; в каждую добавляют в 8 раз большее число капель 0,01 н NaOH и HCl, чем в

обычные пробирки (5мл питательной смеси) для получения нужных значений рН (5,0; 6,0; 7,0; 7,8). В приготовленные растворы погружают корни проростков пшеницы и через два часа определяют значения рН в каждом варианте питательного раствора.

Таблица 1.

Состав полной питательной смеси Кнопа (NPK).

Используемые соли	Количество, г/л
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ безводный	1,000
KH_2PO_4	0,250
KCl	0,125
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,250
FeCl_6	следы

Результаты опыта заносят в таблицу 2, делают выводы о влиянии корневой системы растений на величину рН питательных смесей.

Таблица 2.

Влияние корневой системы на величину рН питательного раствора.

№ варианта	рН питательной смеси	
	Исходное значение	После погружения корней
1		
2		
3		
4		

**Работа 3. Выращивание растений в водной культуре на полной питательной среде и исключением отдельных элементов.
(Приготовление питательных смесей и закладка опыта)**

Введение. Исключение макро- или микроэлемента из минерального питания растений приводит к нарушению структур, обмена веществ растений, торможению их роста, а при дальнейшем дефиците – к гибели растительного организма. Это связано с тем, что необходимые элементы входят в состав определенных веществ, которые выполняют присущие им функции лишь в соединении с данным элементом. Кроме того, ряд элементов (калий, бор, кальций, медь, марганец и др.) выполняют также и регуляторные функции, оказывая влияние на ход жизненных процессов. То нельзя исключить или заменить другим ни один из макро- и микроэлементов из минерального питания растений. Для выяснения физиологической роли некоторых макроэлементов (N, P, K) растения выращивают в водной культуре на полном питательном растворе Кнопа и питательных раствора с исключением этих элементов питания.

Материалы, оборудование и реактивы. 1) стаканы объемом 0,5 л (15 штук); 2) емкости на 3 л с маркировкой объема (4 штуки); 3) пипетки на 1 и 5 мл; 4) аналитические весы, 5) чашки Петри; 6) скальпели; 7) сосуды, обернутые темной бумагой объемом 0,5 л с маркировкой вариантов сред (по 5 штук на каждый вариант – 20 штук); 8) крышки для вегетационных сосудов с отверстиями (по 10-12 отверстий в каждой); 9) ножницы; 10) шпагат; 11) деревянные палочки длиной 30 см – опоры для растений; 12) шкала; Алямовского; 13) смешанный индикатор; 14) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ безводный; 15) KCl; 16) NaCl; 17) $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 18) NaH_2PO_4 ; 19) $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 20) 3-5-дневные проростки пшеницы, ячменя, гороха.

Ход работы. Работа проводится в несколько этапов.

1. Приготовление растворов NPK, NK, PK, NP.

Полную питательную смесь (NPK), а также смеси с исключением фосфора (NK), азота (PK), калия (NP) готовят согласно таблице 1. Сначала поочередно делают навески всех указанных в таблице солей, затем растворяют каждую соль в отдельном стакане, затем сливают в большую емкость, доводя водой до отметки 3 л в соответствии с маркировкой варианта среды. При проведении опыта в осенне-зимний период целесообразно готовить питательные смеси, разбавленные вдвое. Готовые среды хранят в посуде из темного стекла.

2. Определение pH питательных сред по шкале Алямовского.

Определение pH проводят для каждого варианта питательной среды в двукратной повторности по методике (см. работу 2).

Таблица 1.

Полная питательная смесь Кнопа и смеси с исключением N, P, K.

NPK		PK		NK		NP	
Соли	Кол-во, г/л	Соли	Кол-во, г/л	Соли	Кол-во, г/л	Соли	Кол-во, г/л
Ca(NO ₃) ₂ безводный	1,000	CaSO ₄ x x2H ₂ O	1,030	Ca(NO ₃) ₂ безводный	1,000	Ca(NO ₃) ₂ безводный	1,000
KH ₂ PO ₄	0,250	KH ₂ PO ₄	0,250	-	-	NaH ₂ PO ₄	0,250
KCl	0,125	KCl	0,125	KCl	0,250	NaCl	0,090
MgSO ₄ x x7H ₂ O	0,250	MgSO ₄ x x7H ₂ O	0,250	MgSO ₄ x x7H ₂ O	0,250	MgSO ₄ x x7H ₂ O	0,250
FeCl ₆	Сле- ды	FeCl ₆	Сле- ды	FeCl ₆	Сле- ды	FeCl ₆	Сле- ды

3. Посадка растений.

Питательные смеси разливают по 0,5 л в вегетационные сосуды по 5 повторностей на каждый вариант, закрывают крышками с отверстиями и в

каждый сосуд высаживают по 10 штук 3-5-дневных проростков пшеницы таким образом, чтобы корни были погружены в питательный раствор, а семя оставалось на поверхности крышки. К каждому сосуду привязывают по 4 палочки-опоры для поддержания выросших растений. На этикетках пишут дату закладки опыта и величину рН питательной смеси.

4. Уход за культурами.

Веgetационные сосуды устанавливают на хорошо освещенном месте.

Выращивание растений продолжается на протяжении 2 недель. Ежедневно через большие отверстия в вегетационных сосудах растворы продувают воздухом с помощью резиновой груши через воронку подливают питательные смеси, соответствующие маркировке на сосуде.

Работа 4. Влияние исключения N, P, K на рост и развитие растений.

(Учет результатов эксперимента)

Материалы и оборудование: 1) линейки; 2) ножницы; 3) фильтровальная бумага; 4) аналитические весы; 5) мерные цилиндры на 25 мл; 6) пипетки на 1 и 5 мл; 7) смешанный индикатор; 8) шкала Алямовского.

Ход работы. Эта работа является продолжением предыдущей. Через две недели выращивания растений на различных питательных смесях опыт заканчивают и измеряют следующие показатели:

- высоту надземной части растений (по самому большому листу у пшеницы или до точки роста у гороха);
- длину корней (по самому длинному корню);
- сырой вес надземной части растений (без семян);
- сырой вес корневой системы (без семян, корни предварительно обсушить фильтровальной бумагой);
- конечную величину рН всех питательных смесей.

Полученные показатели пересчитывают на 1 растение, усредняют, результаты заносят в таблицу 2, делают выводы по результатам эксперимента.

Таблица 2.

Влияние исключения N, P, K на рост и развитие растений.

Вариант опыта	Длина, см		Масса, г			pH	
	Надземной части	Корневой системы	Надземной части	Корневой системы	Целого растения	До	После
NPК							
NP							
NK							
PK							

Работа 5. Анализ сока растений с помощью полевой лаборатории

Магницкого.

Введение. Для того, что судить об обеспеченности растений важнейшими минеральными элементами (азотом, фосфором, калием, магнием, хлором) в процессе вегетации, необходима диагностика растений в процессе их роста и развития. С этой целью часто используют лабораторию Магницкого, предназначенную для упрощенного количественного определения содержания минеральных элементов в соке растений. С помощью этого анализа можно контролировать условия питания растений во время их роста, внося те или иные удобрения.

Определение содержания нитратного азота, фосфора, калия и магния основано на их свойстве давать с определенными реактивами растворы

или осадки, интенсивность которых сравнивают со шкалой стандартных растворов, обрабатываемых одновременно с соком растений теми же реактивами.

Результаты анализа выражают в мг на 1 кг сока или условно в баллах, при этом величина балла соответствует номеру стандартного раствора. Если окраска исследуемого сока с реактивом занимает промежуточное положение между окрасками двух рядом расположенных пятен или стандартных растворов, то результаты выражаются средним баллом или средним показателем. Если окраска исследуемого сока интенсивнее окраски последнего стандартного раствора, то сок разбавляют водой. Если для анализа используют разбавленный сок, то показатели анализа удваивают.

Материалы и оборудование: 1) полевая лаборатория Магницкого, включающая, наборы реактивов для определения азота, фосфора, калия, магния, хлора; пластинки для проведения анализа, пресс для получения сока растений и др.; 2) фарфоровые чашечки для сока; 3) фильтровальная бумага; 4) ножницы; 5) листья хлорофитума.

Ход работы.

1. Взятие проб для анализа и получение сока или вытяжки.

Взятие проб для анализа является ответственной операцией. Пробы можно брать как у растений открытого грунта, так и у растений, выращенных в водной культуре в помещении. Для взятия проб используют растения, имеющие типичный внешний вид для данного участка, с каждой площадки берут по одной пробе.

У картофеля, томата, свеклы, кукурузы. Подсолнечника, табака, капусты пробы берут с 6 растений по одному листу одного физиологического возраста. На дереве или кусте выбирают хорошо освещенные типичные однолетние побеги, и из нижней их части отбирают по одному листу, закончившему рост. Каждая проба берется с 6 побегов по

одному листу с каждого. У злаков берут для анализа в ранние фазы развития все растение, а в более поздние – берут по одному листу с нижнего яруса. Для контроля за питанием растений пробы для анализа растений берут, начиная с молодого возраста, через каждые 7-10 дней.

При получении сока или вытяжки растений, их нарезают на небольшие кусочки, укладывают в пресс и отжимают сок, помещая его сразу на капельные пластинки для анализа или в фарфоровую чашечку. По окончании работы с одной пробой пресс промывают водой и просушивают фильтровальной бумагой.

Если растений сильно окрашен, что затрудняет проведение анализа, тогда готовят водную вытяжку из листьев с активированным углем, который поглощает краситель и осветляет ее. Для анализа берут 2 г измельченных листьев, добавляют 0,2-0,5 г активированного угля, 6 мл воды, заворачивают в ткань, отжимают прессом вытяжку. Эта вытяжка слабее сока в 4 раза и ее используют для анализа.

2. Определение нитратного азота.

Сначала готовят цветную шкалу стандартных растворов: в четыре углубления капельных пластинок насыпают лопаточкой сухой реактив на азот (с зерно ржи) и приливают к нему по три капли буферного раствора, затем в каждую ячейку добавляют по одной капле смешанного стандартного раствора, соответственно №1, №2, №3, №4 и перемешивают. Через некоторое время в углублениях наблюдается розовая окраска разной интенсивности. Для определения нитратного азота в ячейку пластинки помещают реактив на азот, 3 капли буферного раствора и 1 каплю сока растений, разбавленного в 2 раза. Появившуюся окраску сравнивают со стандартным раствором шкалы и оценивают содержание нитратного азота в соке растения, обвести кружочком нужное значение в таблице 1.

Таблица 1.

Результаты анализа на содержание нитратов в соке.

Номер стандартного раствора	1	2	3	4
Нитратный азот, мг/кг в соке	100	250	500	1000
Балл	1 очень низкое	2 низкое	3 среднее	4 высокое

При содержании нитратного азота в соке растения 250 мг/кг и ниже необходимо внести азотные удобрения.

3. Определение фосфора в клеточном соке.

В четыре углубления капельницы вносят по одной капле смешанные стандартные растворы, в пятое углубление помещают 1 каплю разбавленного водой сока (1:3). Во все ячейки прибавляют по две капли реактива на фосфор. Затем перемешивают смесь сока и стандартного растворов оловянной палочкой 10 секунд. Полученную окраску исследуемого сока сравнивают с окраской цветной бумажной шкалы или с окраской шкалы стандартных растворов на капельной пластинке.

Результаты заносят в таблицу 2.

Таблица 2.

Результаты анализа на содержание фосфора в соке.

Номер стандартного раствора	1	2	3	4
Фосфор, мг/кг сока	16	40	80	160
Балл	1 очень низкое	2 низкое	3 среднее	4 высокое

При содержании фосфора в соке растения 40 мг/кг и ниже необходимо внести фосфорные удобрения.

1. Определение калия в клеточном соке.

Определение калия в клеточном соке растений основано на образовании оранжево-красного осадка дипикриламмината калия, не изменяющего своей окраски при добавлении соляной кислоты. При действии кислоты на реактив выделяется свободный дипикриламин желтого цвета. В четыре углубления капельной пластинки вносят по одной капле стандартных растворов №1, №2, №3, №4, а в пятую ячейку помещают каплю исследуемого сока. Одновременно к сокам растений и стандартным растворам прибавляют по капле реактива на калий и по капле соляной кислоты. Растворы перемешивают и сравнивают окраску осадков исследуемого сока с окраской пятен или окраской шкалы стандартных растворов на капельной пластинке. Результаты опыта заносят в таблицу 3. При содержании калия в соке растения 1500 мг/кг и ниже необходимо внести калийные удобрения.

Таблица 3.

Результаты анализа на содержание калия в соке.

Номер стандартного раствора	1	2	3	4
Калий, мг/кг	600	1500	3000	6000
Балл	1 очень низкое	2 низкое	3 среднее	4 высокое

2. Определение магния в клеточном соке.

Определение магния основано на образовании окрашенного соединения при взаимодействии титанового желтого с гидроксидом магния. Помещают каплю разбавленного сока (1:3) в углубление

капельной пластинки, одновременно в четыре другие углубления помещают стандартные растворы по капле. К соку растения и стандартным растворам прибавляют последовательно по капле титанового желтого, перемешивают, затем по капле едкого натра. Более четкие результаты получаются при добавлении во все углубления по капле 1% свежеприготовленного раствора крахмала перед добавлением едкого натра. Полученную окраску исследуемого сока сравнивают с окраской цветной бумажной шкалы или окраской шкалы стандартных растворов на капельной пластинке. Результаты опыта заносят в таблицу 4.

При содержании магния в соке растения 100 мг/кг и ниже необходимо внести магниесодержащие (кали-магнезия) удобрения.

Таблица 4.

Результаты анализа на содержание магния в соке.

Номер стандартного раствора	1	2	3	4
Магний, мг/кг	40	100	200	400
Балл	1 очень низкое	2 низкое	3 среднее	4 высокое

3. Определение хлора в клеточном соке.

Определение хлора основано на титровании его раствором азотнокислого серебра определенной концентрации. Индикатором, показывающим конец титрования, является хромовокислый калий, который образует красный осадок хромовокислого серебра, лишь после того, как весь хлор будет осажден азотнокислым серебром. В углубления капельной пластинки или фарфоровые чашечки помещают кусочки индикаторной бумаги и добавляют по 1 капле сока, Затем прибавляют по каплям реактив на хлор, перемешивают, до появления коричневой

окраски. Записывают количество капель реактива, пошедшее на титрование хлора и определяют его содержание по таблице 5.

Таблица 5.

Результаты анализа на содержание хлора в соке.

Число капель	1	2	3	4	5	6
Содержание хлора, мг/л сока	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6
Среднее значение	0,5	1,5	2,5	3,5	4,5	5,5

При расходовании на титрование одной капли сока 1-3 капель азотнокислого серебра содержание хлора считается нормальным, при расходовании 4 капель – повышенным, при 5 и более – токсичным.

4. Обработка полученных результатов и выводы.

Все результаты опытов переносятся в сводную таблицу 6, по ним делаются выводы о содержании минеральных элементов в исследуемых растениях и даются рекомендации.

Таблица 6.

Результаты анализа клеточного сока на содержания азота, фосфора, калия, магния, хлора.

Элементы	Содержание	Рекомендации
Азот		
Фосфор		
Калий		
Магний		
Хлор		

Работа 6. Микрохимический анализ золы растений.

Введение. Зола, получаемая при сжигании растений, содержит большое количество химических элементов, среди которых есть макроэлементы (фосфор, сера, калий, кальций, магний) и микроэлементы (железо, медь, цинк, марганец, молибден, бор).

Для изучения химического состава золы можно использовать микрохимический метод, для которого требуется небольшое количество золы растений. Материалом для работы может служить табачный пепел или озоленные листья растений.

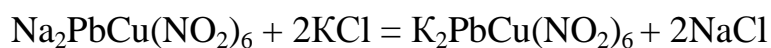
Все реакции на обнаружение химических элементов золы проводят на чистых и сухих предметных стеклах. Тупым концом стеклянной палочки наносят на стекло каплю раствора золы, и на расстоянии 4-5 мм от нее – каплю соответствующего реактива. Заостренным концом стеклянной палочки соединяют капли дугообразным «каналом» где происходит реакция, при этом по краям «канала» будет наблюдаться быстрая кристаллизация продуктов реакции. Образующиеся кристаллы рассматривают под микроскопом и зарисовывают в тетрадь. Предметные стекла и стеклянные палочки используют новые для каждого анализа.

Материалы, оборудование и реактивы: 1) Предметные стекла; 2) глазные стеклянные палочки; 3) фильтровальная бумага; 4) Микроскопы; 5) дистиллированная вода; 6) зола или табачный пепел; 7) 10% раствор HCl; 8) 1% раствор H₂SO₄; 9) 10% раствор NH₃; 10) 5% раствор Na₂HPO₄; 11) 10% раствор молибдата аммония в 1% HNO₃; 12) 1% раствор K₄[Fe(CN)₆]; 13) Sr(NO₃)₂; 14) раствор Na₂PbCu(NO₂)₆.

Ход работы.

1. Обнаружение калия.

Реактивом на ионы калия K⁺ служит водный раствор комплексной соли Na₂PbCu(NO₂)₆. Реакция идет с образованием свинцово-медно-азотнокислого калия по уравнению:



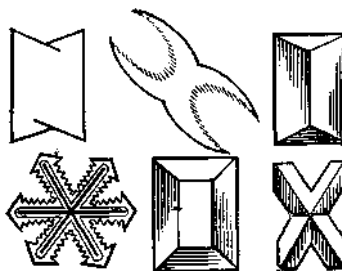
При наличии в золе калия образуются свинцово-черные и темно-коричневые кристаллы кубической и шестигранной формы.

2. Обнаружения магния.

Чтобы обнаружить магний в золе, каплю раствора золы вначале нейтрализуют аммиаком. На стекло наносят каплю суспензии золы, затем каплю раствора аммиака, а затем соединяют с каплей реактив 1% раствора Na_2HPO_4 . Происходит реакция:



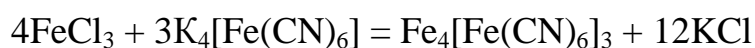
Кристаллы фосфорно-аммиачно-магнезиальной соли имеют вид вытянутых узких прямоугольников, перекрещивающихся палочек, рамок:



3. Обнаружение железа.

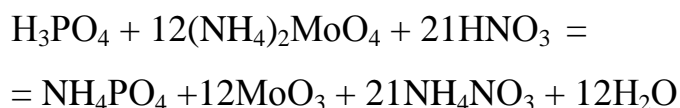
Для обнаружения железа в золе используют цветную реакцию с Железосинеродистым калием (1% раствор желтой кровяной соли).

Во время реакции образуется «берлинская лазурь» ярко-синего цвета:

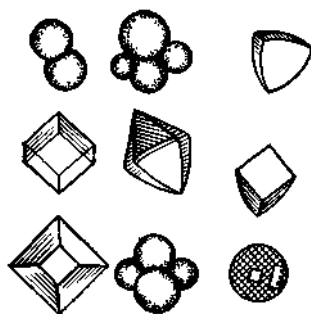


4. Обнаружение фосфора.

Для обнаружения фосфора используют 1% раствор молибденовокислого аммония в 15% HNO_3 . При смешивании зольной вытяжки с этим реактивом, происходит реакция:



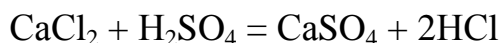
В результате реакции образуется зеленовато-желтый скрытокристаллический осадок фосфорно-молибденового аммиака:



5. Обнаружение кальция.

Чтобы обнаружить кальций используют 1% раствор H_2SO_4 .

Происходит реакция:

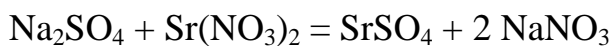


В результате реакции выпадают игольчатые кристаллы гипса или звездчатые сростки кристаллов.



6. Обнаружение серы.

Присутствие серы обнаруживают прибавлением 1% раствора азотнокислого стронция к вытяжке золы. Происходит реакция:



На границе раздела фаз (жидкость-воздух) по краю «канала» образуются мелкие закругленные черные кристаллы сернокислого стронция.

Полученные результаты заносятся в сводную таблицу 1, делаются выводы по результатам опытов.

Таблица 1.

Микрохимический анализ золы растений.

Исследуемый элемент	Полученное вещество (формула)	Форма кристаллов
Калий		
Магний		
Фосфор		
Кальций		
Железо		
Сера		

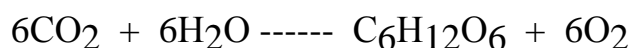
РАЗДЕЛ IV. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА.

Фотосинтез – единственный процесс на Земле, идущий в грандиозных масштабах. Космическая энергия, запасенная растениями в органических веществах, составляет основу жизнедеятельности всех других гетеротрофных организмов – от бактерий до человека.

Планетарное значение фотосинтеза:

1. Накопление ежегодно свыше 200 млрд. т органической массы на Земле.
2. Обеспечение постоянства содержания CO₂ в атмосфере на уровне 0,03 %.
3. Поддержание уровня кислорода в атмосфере на уровне 21 %.
4. Создание защитного озонового экрана.

Фотосинтез – это процесс усвоения растениями световой энергии и использования ее для образования органических веществ из углекислого газа и воды с выделением кислорода. Общее уравнение фотосинтеза:



Фотосинтез – сложный окислительно-восстановительный процесс, состоящий из множества ферментативных реакций, в результате которого углекислота восстанавливается, а вода окисляется. То есть углекислота является акцептором электронов, а вода – их донором. У высших растений он протекает в специальных клеточных органеллах – хлоропластах (пластидах) на мембранных структурах с помощью растительных пигментов (хлорофиллов и каротиноидов). При этом участвуют различные ферменты и кофакторы. Образующиеся в процессе фотосинтеза в хлоропластах ассимилирующих тканей продукты (обычно простые углеводы) транспортируются в другие органы и ткани растений, где используются в процессах метаболизма и роста.

Фотосинтез осуществляется посредством чередования двух фаз:

1. Световая фаза (фотохимическая), протекающая на свету без участия углекислого газа, не зависящая от температуры. Она включает реакции поглощения хлорофиллом и другими пигментами квантов света и последующую трансформацию световой энергии в процессе фотосинтетического фосфорилирования в энергию химических связей молекулы АТФ (аденозинтрифосфат) и восстановленного НАДхН (никотинамидадениндинуклеотидфосфат). При этом также происходит фотолиз воды (светозависимое окислительное расщепление воды под действием света и ферментов) с выделением молекулярного кислорода. Суммарное уравнение световой фазы фотосинтеза:

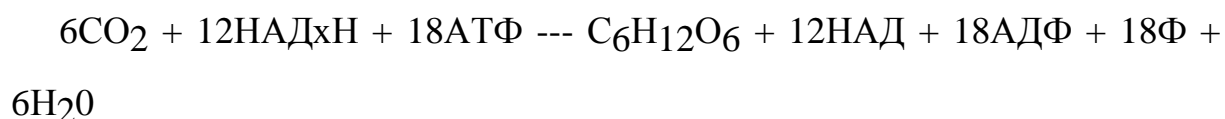


Общий энергетический выход световой фазы фотосинтеза составляет: 12АТФ, 12НАДхН, выделяется 1 молекула O_2 .

2. Темновая фаза (химическая), протекающая в темноте с участием углекислоты, зависящая от температуры. В темновой фазе CO_2 атмосферы, поступающий в клетки через устьица, восстанавливается до углеводов благодаря энергии, ранее накопленной в форме АТФ и НАДхН в процессе световой фазы.

Восстановление углерода происходит в строме хлоропластов в цикле реакций, которые называются циклом Кальвина (C_3 -путь) под действием ферментов и с участием энергии АТФ и НАДхН

Суммарное уравнение темновой фазы фотосинтеза:



В результате шести оборотов цикла Кальвина с поглощением 6 молекул CO_2 образуется 1 молекула 6-углеродного сахара глюкозы, 12 молекул

окисленного НАД, 18 молекул фосфата, 18 молекул АДФ (аденозиндифосфата) и 6 молекул воды.

Работа 1. Определение интенсивности фотосинтеза высшего водного растения по выделению кислорода в зависимости от влияния внешних условий.

Один из важнейших показателей фотосинтеза является интенсивность фотосинтеза. Его определяют различными способами:

- по количеству поглощенного CO_2 ;
- по количеству выделенного O_2 ;
- по количеству синтезированного органического вещества.

Наиболее простой метод определения интенсивности фотосинтеза – по количеству выделенного кислорода, который образуется при фотохимическом окислении воды во время световой фазы фотосинтеза (фотолиз воды).

Для определения интенсивности фотосинтеза водного растения можно использовать метод счета пузырьков O_2 . Он основан на том, что на свету в листьях происходит процесс фотосинтеза, продуктом которого является кислород, накапливающийся в межклетниках, при срезании стебля избыток газа начинает выделяться с поверхности среза в виде непрерывного тока пузырьков кислорода, скорость образования которых зависит от интенсивности фотосинтеза. Данный метод не отличается большой точностью, но зато очень прост и дает наглядное представление о тесной зависимости фотосинтеза от внешних условий.

Материалы и реактивы: 1) пробирки на 20 мл (9 шт.), 2) стаканы химические на 300-500 мл, 3) раствор бихромата калия (красный экран), 4) раствор серно-аммиачно-медной соли (синий экран), 5) лампы

накаливания (100-200 Вт), 6) песочные часы, 7) линейки, 8) термометр ртутный, 9) водяная баня.

Ход работы. Черенки элодеи (*Elodea Canadensis* L.) опускают в пробирки с водой срезом вверх, так, чтобы между срезом и поверхностью водой было расстояние менее 2 см. Пробирки помещают в различные условия (Табл.1) и подсчитывают количество выделившихся пузырьков в течение 3 минут. В первом варианте опыта пробирки помещают на разных расстояниях от источника света (15, 25, 35 см) на фоне белого экрана при комнатной температуре, которую измеряют перед началом опыта. Во втором варианте опыта расстояние от источника света остается постоянным (15см), температура используется комнатная, но используется различный цвет экрана (белый, красный, синий). В третьем варианте опыта расстояние от источника света остается постоянным (15 см), цвет экрана используется белый, но используется различная температура (комнатная, 30-35 град. С, 8-10 град. С). Результаты заносятся в таблицу 1.

Таблица 1.

Влияние внешних факторов на интенсивность фотосинтеза высшего водного растения.

Расстояние от источника света, см	Цвет экрана	Температура воды, град. С	Количество пузырьков O ₂ за 1 мин.	Процент к контролю, %
15 25 35	белый белый белый	комнатная (измеряется)		100
15 15 15	белый красный синий	комнатная (измеряется)		100
15 15 15	белый белый белый	Комнатная 30-35 8-10		100

В опытных вариантах определяется процент к контролю, делаются выводы о влиянии внешних факторов окружающей среды на интенсивность фотосинтеза. Полученные результаты заносятся в таблицу 1, определяется процент к контролю, делаются выводы о влиянии внешних факторов окружающей среды на интенсивность фотосинтеза.

Работа 2. Определение интенсивности фотосинтеза по количеству поглощению углекислого газа растениями в замкнутом сосуде (по Л.А. Иванову и Н.Л. Коссович)

Чаще всего интенсивность фотосинтеза определяется по количеству поглощенного углекислого газа единицу времени единицей площади поверхности листа растения. Данный метод основан на определении количества углекислого газа, поглощенного листьями при фотосинтезе. Для этого побег растения или его отдельный лист помещают в большую стеклянную колбу и выдерживают некоторое время на свету. В процессе фотосинтеза часть углекислого газа потребляется листом растения. Оставшийся углекислый газ связывают, наливая в колбу раствор щелочи. После чего избыток щелочи титруют соляной или щавелевой кислотой. Зная количество углекислоты в колбе до опыта и после опыта, по разности между этими величинами вычисляют количество CO_2 , поглощенного растением в процессе фотосинтеза.

Материалы и оборудование: 1) колбы 1 л конические (2 шт.); 2) пробки резиновые с отверстием; 3) стеклянные палочки; 4) стеклянная трубочка, 5) металлический штатив, 6) бюретки для титрования, 7) часы, 8) миллиметровая бумага, 9) лампы накаливания 100-200 Вт; 10) фенолфталеин; 11) 0,02 Н раствор $\text{Ba}(\text{OH})_2$; 12) 0,02 Н раствор HOOC-COOH .

Ход определения. Определение интенсивности фотосинтеза проводят в круглодонных или конических колбах большого объема (1 л). Их оставляют открытыми в течение 20-30 минут для предварительного заполнения одинаковым по составу воздухом, затем одновременно закрывают плотно пригнанными пробками с вставленными в них стеклянными палочками. Одна служит для контрольного определения содержания углекислого газа, другую используют для постановки эксперимента.

Затем срезают лист растения, обновляют срез бритвой по водой, (чтобы избежать закупорки сосудов воздухом), закрепляют быстро черешок листа в пробке и помещают его в трубочку с кипяченой водой, противоположный конец которой закрыт пробкой с вставленной в нее стеклянной палочкой, закрепленной в большой пробке от горлышка круглодонной колбы (Рис. 1).

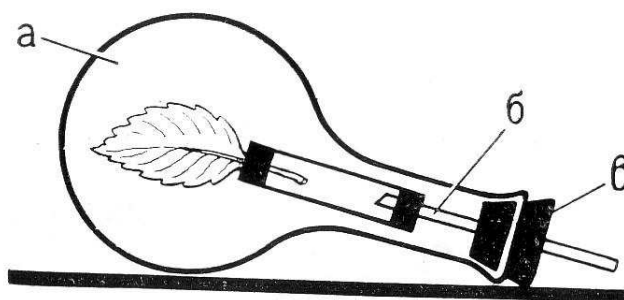


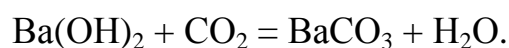
Рис. 1. Прибор для определения интенсивности фотосинтеза по поглощению углекислого газа (а – колба, б – стержень с листом, в – пробка).

Из опытной круглодонной колбы быстрым спокойным движением вынимают пробку и вставляют пробку с черешком листа. Все щели в пробке замазывают пластилином для дополнительной герметизации колбы. При этом важно не касаться колбы руками, чтобы она не нагревалась. Затем колба в перевернутом виде укрепляется в кольце металлического штатива и выставляется на яркий солнечный свет на 20 минут или освещается яркой электрической лампой (200 Вт) в течение 5-15

минут. По окончании световой экспозиции, пробку с черешком листа быстро вынимают, заменяя ее на обычную пробку. Контрольную колбу тоже приоткрывают на несколько секунд.

Фиксируют точное время экспозиции. Определяют площадь листа, обводя его контуры на миллиметровой бумаге и подсчитывая площадь в дм^2 .

Затем в обе колбы (опытную и контрольную), предварительно вынув из пробок стеклянные палочки, наливают по 2-3 капли фенолфталеина и по 20 мл 0,02 Н раствора $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Происходит реакция связывания углекислого газа баритом:



Полное поглощение углекислоты баритом достигается через 30 минут при легком встряхивании колб. Избыток барита оттитровывают 0,02 Н раствором щавелевой кислоты (HOOC-COOH) до исчезновения розовой окраски фенолфталеина. 1 мл раствора барита и щавелевой кислоты такой же концентрации соответствует 0,44 мг CO_2 . Количество углекислоты, обнаруженное в опытной колбе, показывает, сколько углекислоты осталось в ней после пребывания листа растения. Исходное содержание углекислоты дает контрольная колба. По разности между содержанием углекислоты в колбах до и после опыта определяют количество углекислоты, поглощенной растением.

Результаты экспериментов заносят в таблицу 1.

Таблица 1.

Определение интенсивности фотосинтеза

Объект (название растения)	Продолжительность опыта, мин.	Количество израсходованного $\text{Ba}(\text{OH})_2$	Количество щавелевой кислоты для титрования, мл		Площадь листа, дм^2	Интенсивность фотосинтеза, мг/ч/дм^2
			Опыт	Контроль		

--	--	--	--	--	--	--

Интенсивность фотосинтеза рассчитывается в мг CO₂ на единицу листовой поверхности, выраженной в дм² за один час. Интенсивность фотосинтеза рассчитывают по формуле:

$$J_a = (A-B) \times K \times 0,88 \times 60 / S \times T \quad (\text{мг CO}_2 \times \text{час}^{-1} \times \text{дм}^2), \text{ где:}$$

A...- количество щавелевой кислоты, израсходованное на титрование 20 мл барита в опытной колбе;

B...- количество щавелевой кислоты, израсходованное на титрование 20 мл барита в контрольной колбе;

K...- поправка к титру барита;

0,88- количество мг CO₂, соответствующее 1 мл 0,02 Н раствора щавелевой кислоты;

S...- площадь листа в дм²;

T...- время опыта в минутах;

60..-коэффициент пересчета минут в часы.

По результатам таблицы делают выводы по определению интенсивности фотосинтеза.

Работа 3. Обнаружение фотосинтеза методом крахмальной пробы (по Саксу).

В процессе фотосинтеза происходит поглощение и преобразование энергии света пигментными системами хлоропластов, находящихся в зеленом листе. Лист как орган фотосинтеза сложен по своей организации. Поглощение углекислого газа листом осуществляется только при открытых устьицах, когда клетки листа достаточно насыщены водой. Одновременно с этим лист осуществляет транспирацию. Этому

способствует губчатая ткань с системой межклетников и рыхло расположенных хлорофилл содержащих клеток. Ассимиляционной тканью является, преимущественно, палисадная ткань, где активно синтезируются и накапливаются конечные продукты фотосинтеза, в первую очередь, - углеводный биополимер крахмал. Проводящая система листа обеспечивает отток ассимилятов в другие части растения. Экспериментальным доказательством того, что лист является основным органом фотосинтеза, может служить метод крахмальной пробы Сакса, позволяющий выявить наличие крахмала, образующегося на свету, при оптимальных условиях водоснабжения и содержания углекислого газа в окружающей среде. Суть метода заключается в том, что в предварительно выдержанном в темноте растении (для оттока углеводов из листа) при наложении на лист светонепроницаемого экрана с вырезанной на нем какой-либо фигурой крахмал при освещении образуется только в этой открытой части трафарета, что можно выявить с помощью йодной реакции (в присутствии йода крахмал приобретает сине-фиолетовую окраску).

Материалы и оборудование: 1) растение пеларгонии в горшке; 2) раствор J_2 в КJ (раствор Люголя); 3) спирт; 4) водяная баня; 5) чашки Петри; 6) Ножницы; 7) пинцет; 8) скрепки; 9) черная бумага; 10) лампа мощностью 200 Вт, 11) пробирки; 12) держатель для пробирок.

Ход работы. Перед началом эксперимента растение пеларгонии в горшке обильно поливают и помещают на 2-3 дня в темное место. При выдерживании в темноте листья постепенно теряют крахмал, который расходуется в процессе дыхания, роста, отводится в качестве запасящего вещества в другие органы растения. Можно провести тестирование листьев на содержание в них крахмала – должна быть отрицательная реакция с раствором йода в йодистом калии.

Один или несколько листьев с нижней и верхней стороны закрывают непрозрачным (черная фотографическая бумага) экраном, с вырезанными

на нем фигурами, буквами, цифрами или контрастным негативом. Экран прикрепляют к листу несколькими скрепками. Растение выставляют на яркий свет на 1 час.

После световой экспозиции нужно лист освободить от черного экрана, свернуть в трубочку, поместить в пробирку черешком вверх и залить водой так, чтобы полностью погрузить листовую пластинку. Далее пробирку закрепить в держателе и прокипятить на спиртовке в течение 1-3 мин для того, чтобы разрушить клетки и облегчить извлечение хлорофилла из листа. Затем следует слить воду, залить спирт и осторожно прокипятить лист в течение 2-3 мин в спирте на водяной бане до полного извлечения хлорофилла из листа (произойдет обесцвечивание листа). Спирт слить в отдельную емкость. Для размягчения листа добавить в пробирку воду.

Осторожно за черешок вытащить его из пробирки и расправить в чашке Петри и залить раствором йода в йодистом калии. Через 5-10 мин вытащить лист из йода, промыть водой, обсушить фильтровальной бумагой и внимательно рассмотреть. Результат должен быть следующим: те участки листа, которые были освещены, окрасятся йодом в синий цвет, а затемненные - в желтый (Рис. 1).

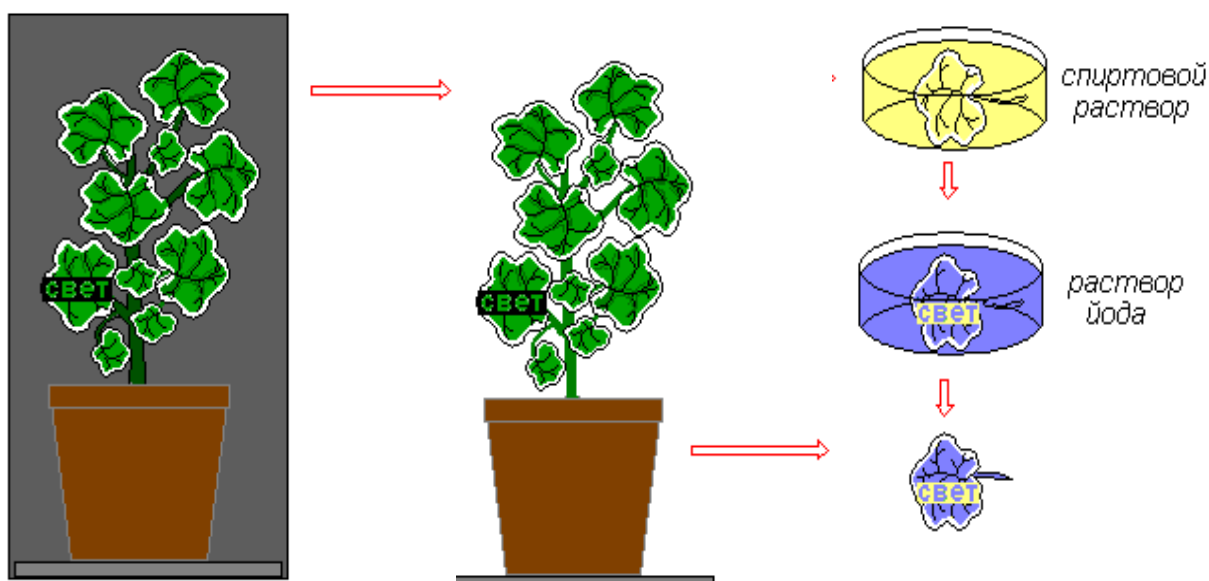


Рис. 1 Схема постановки эксперимента по обнаружению фотосинтеза у растений методом крахмальной пробы.

По результатам работы сделать выводы, зарисовать схему опыта, вклеить или зарисовать в отчет обработанный лист пеларгонии.

Контрольные вопросы:

1. Как можно доказать, что лист является основным органом фотосинтеза?
2. Каковы основные условия, необходимые для процесса образования крахмала в листьях?
3. Будет ли одинакова интенсивность окрашивания в йоде открытой части листа при ее освещении красным и зеленым светом? Дать пояснения.

РАЗДЕЛ III. ПИГМЕНТЫ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА.

Пигменты растений – это химические вещества, имеющие различную окраску и способные к избирательному поглощению части солнечного спектра в области 300-800 нм. К числу пигментов относят разнообразные соединения, участвующие не только в фотохимических, но и ферментативных реакциях.

Пигменты фотохимических реакций делят на две основные группы:

1. Тетрапирролы:

а) хлорофиллы – Mg-порфирины, в основе химического строения которых лежит порфириновое кольцо;

б) фикобилины – тетрапирролы с незамкнутой системой.

2. полиизопрены – каротиноиды.

Хлорофиллы – растительные пигменты, выполняющие важную функцию в реакциях фотосинтеза. Известно более 10 пигментов, входящих в группу хлорофиллов и различающихся между собой некоторыми структурными особенностями. Основные хлорофиллы «а» и «b» характерны для высших растений, «а» и «d» - для красных водорослей, «с» - для бурых водорослей, бактериохлорофилл – для фотосинтетических бактерий, осуществляющих фоторедукцию.

В основе структуры хлорофилла лежит порфирин – полярная часть молекулы, образующая порфириновое ядро, и фитольный «хвост» (остаток одноатомного непредельного спирта фитола). В состав порфиринового ядра входит атом Mg, определяющий физические и химические свойства хлорофилла, способный изменять спектральные и конформационные характеристики молекулы. Фитол не участвует в поглощении света, но ориентирует молекулу хлорофилла в структуре хлоропласта.

Хлорофиллы выполняют следующие функции в хлоропластах:

- 1) поглощение света в красной и сине-фиолетовой частях спектра;
- 2) запасание энергии;
- 3) преобразование энергии в реакционных центрах.

Остальные группы пигментов являются дополнительными (вспомогательными).

Фикобилины – водорастворимые пигменты водорослей, способные активно поглощать энергию света в зеленой части спектра, главными из которых являются фикоэритрин и фикоцианин. Они являются хромофорными группами фикобилипротеинов – глобулиновых белков, с которыми они связаны прочными ковалентными связями и не способны преобразовывать энергию. Водорастворимые фикобилины локализованы в клетках водорослей в специальных гранулах – фикобилисомах.

Фикобилины делятся на:

- А) фикоэритрины – белки красного цвета.
- Б) фикоцианины – сине-голубые белки.
- В) аллофикоцианины – синие белки.

Каротиноиды – жирорастворимые пигменты желтого, оранжевого и красного цвета, способствующие дополнительному поглощению энергии света и защищающие молекулы хлорофилла от фотоокисления. Они присутствуют во всех хлоропластах растений. Все каротиноиды – полиеновые соединения, состоящие из восьми остатков изопрена, которые образуют цепь конъюгированных связей.

Каротиноиды делятся на:

- 1) каротины;
- 2) ксантофиллы.

Каротиноиды выполняют следующие функции в хлоропластах:

- 1) способствуют дополнительному поглощению энергии света;
- 2) Защищают хлорофилл от фотоокисления;
- 3) Ксантофиллы участвуют в образовании молекулярного O₂.

Работа 1. Получение спиртовой вытяжки пигментов и изучение их химических и оптических свойств.

Для изучения химических и оптических свойств растительных пигментов сначала получают спиртовую вытяжку пигментов, затем полученную вытяжку используют для изучения флуоресценции пигментов, их оптических свойств, изучения их химических свойств с помощью метода разделения пигментов по Краусу, омыления хлорофилла щелочью, получения феофитина и обратное замещение водорода на атом металла.

При поглощении хлорофиллом кванта света один из электронов переходит на более высокий энергетический уровень, и молекула хлорофилла оказывается в «возбужденном» состоянии. Однако время ее пребывания в таком состоянии чрезвычайно мало, и электрон вновь возвращается в исходное положение. Этот переход электрона на прежнее место сопровождается излучением, которое называется флуоресценцией. Хлорофилл флуоресцирует только в красной части спектра.

Способность зеленых листьев сбрасывать избыточную энергию в процессе флуоресценции имеет важное приспособительное значение, так как в естественных условиях не все растения переносят высокую освещенность местообитания. Сбрасывая лишнюю поглощенную энергию, растения предотвращают фотоокисление зеленых пластидных пигментов.

Материалы и оборудование: 1) CaCO_3 сухой; 2) этанол (этиловый спирт); 3) гептан (бензин); 4) 20 % NaOH ; 5) 10 % HCl ; 6) $\text{Si}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ сухой; 7) фарфоровые ступки с пестиками; 8) колбы конические на 50 мл; 9) воронки; 10) бумажные фильтры; 11) пробирки на 10 мл; 12) пипетки на 1 и 5 мл; 13) скальпели; 14) водяная баня.

Ход работы.

1. Получение спиртовой вытяжки пигментов.

Мелко нарезанные листья или проростки (3-4 г) помещают в фарфоровую ступку и растирают с чистым кварцевым песком с добавлением на кончике скальпеля CaCO_3 для нейтрализации кислот клеточного сока и 15-20 мл этанола. Полученную вытяжку фильтруют в сухую колбочку через бумажный фильтр. Спиртовая вытяжка должна быть темно-зеленого цвета. Она представляет собой смесь пигментов – хлорофиллов «а» и «b», каротиноидов, ксантофиллов. Эта вытяжка используется для изучения физических и химических свойств растительных пигментов.

2. Разделение пигментов по Краусу.

Этот метод основан на различной растворимости пигментов в спирте и гептане (бензине). Эти растворители при сливании не смешиваются и образуют две фазы: верхнюю – гептановую (бензиновую) и нижнюю – спиртовую, поэтому происходит разделение компонентов смеси.

В пробирку наливают 2-3 мл спиртовой вытяжки пигментов и добавляют 3-4 мл бензина. Содержимое пробирки сильно встряхивают и дают отстояться. При этом происходит разделение слоев: верхний бензиновый слой становится зеленым, так как в нем содержится хлорофиллы «а» и «b», а также каротин; нижний становится желтым, так как содержит ксантофиллы.

По окончании работы зарисовывают картину распределения отдельных пигментов, а в выводах объясняют их различную растворимость в спирте и бензине.

3. Омыление хлорофилла щелочью.

Молекула хлорофилла представляет собой эфир двухосновной хлорофиллиновой кислоты с двумя спиртами – фитолом и метанолом. При реакции со щелочью хлорофилл омыляется, образуя соответствующие соли и спирты. В результате реакции омыления образуется соль

хлорофиллиновой кислоты, сохраняющая зеленую окраску и свойства хлорофилла.

В пробирку, где производилось разделение пигментов по Краусу вносят пинцетом небольшой кусочек NaOH или KOH. Пробирку, закрыв большим пальцем сильно встряхивают и оставляют отстояться. Спустя некоторое время происходит разделение слоев: верхний бензиновый слой становится желтым из-за присутствия каротина, а нижний спиртовой слой становится зеленым, так как в нем растворяются продукты омыления хлорофилла – щелочные соли. В этом слое также находится и ксантофилл.

По окончании опыта зарисовывают окраску слоев, указывая распределение пигментов.

4. Получение феофитина и обратное замещение атомом металла.

Хлорофиллы относятся к магний-порфиринам. Атом магния сравнительно слабо удерживается в порфириновом ядре и при воздействии сильных кислот легко замещается двумя атомами водорода, что приводит к образованию феофитина бурого цвета

Если на феофитин подействовать солями меди, цинка или свинца, то вместо двух атомов водорода в ядро хлорофилла входит соответствующий металл и вновь восстанавливается зеленая окраска. Однако, она несколько отличается от окраски хлорофилла. Следовательно, цвет хлорофиллов зависит от наличия металлорганической связи в их молекуле.

В две пробирки наливают по 2-3 мл спиртовой вытяжки пигментов и прибавляют по одной-две капли 10 % HCl. При взбалтывании зеленая окраска хлорофилла переходит в бурую, характерную для феофитина. Далее одну пробирку с феофитином оставляют для контроля, а во вторую вносят несколько кристалликов уксуснокислой меди и раствор нагревают на водяной бане до кипения. После нагревания бурый цвет раствора меняется на зеленый из-за образования хлорофиллоподобного производного меди.

По окончании опыта зарисовывают полученные результаты и дают им объяснения.

5. Изучение флуоресценции хлорофилла.

Спиртовую вытяжку пигментов или раствор хлорофилла в пробирке сначала рассматривают в проходящем свете, например, у окна. Раствор пигмента при этом будет иметь изумрудно-зеленую окраску. Затем ту же пробирку рассматривают в отраженном свете, поместив ее на темный фон и за источником света. В этом случае раствор приобретает вишнево-красную окраску. Следовательно, хлорофилл обладает способностью к флуоресценции, то есть отражению поглощенных световых лучей с измененной длиной волны.

По окончании опыта зарисовывают полученные результаты, дают соответствующие пояснения.

В конце работы делается общий вывод об изученных химических и физических свойствах растительных пигментов.

Работа 2. Разделение смеси пигментов с помощью бумажной хроматографии.

Хроматографический метод разделения растительных пигментов, впервые предложенный русским ученым М.С. Цветом, заключается в том, что раствор, содержащий смесь пигментов, пропускают через слой адсорбента. Различные пигменты, обладая неодинаковой растворимостью в данном растворителе и разной адсорбируемостью, передвигаются по мере движения растворителя с различной скоростью и располагаются на адсорбенте в разных местах. Чем выше растворимость пигмента в растворителе, тем быстрее он будет передвигаться, и тем дальше от старта будет располагаться зона этого пигмента.

Материалы и оборудование: 1) ацетон; 2) бензин (гептан); 3) бензол; 4) полоска хроматографической бумаги шириной 1,502 см и длиной 20 см; 5) хроматографическая камера; 6) пинцет; 7) листья растений; 8) фарфоровая ступка с пестиком; 9) CaCO_3 сухой; 10) кварцевый песок; 11) воронки; 12) бумажные фильтры.

Ход работы. Измельченные свежие листья растений (2-3 г) помещают в фарфоровую ступку, добавляют немного CaCO_3 для нейтрализации органических кислот клеточного сока и кварцевого песка, тщательно растирают, приливая постепенно ацетон (25 мл). Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр в сухую чистую колбу.

Наливают ацетоновую вытяжку пигментов в бюкс и погружают в нее кончик полоски из хроматографической бумаги (20x3 см). Через несколько секунд, когда вытяжка поднимется по полоске бумаги на 1-1,5 см, высушивают бумагу на воздухе и снова погружают в раствор пигментов на несколько секунд. Эту операцию повторяют 5-7 раз до тех пор, пока у верхней границы распространения пигментов на бумаге не образуется темно-зеленая полоска. После этого погружают кончик бумажной полоски в другой бюкс с чистым ацетоном, чтобы все пигменты поднялись на высоту 1-1,5 см.

Затем высушивают полоску до полного исчезновения запаха ацетона, помещают ее в вертикальном положении в хроматографическую камеру, которая представляет собой высокий цилиндр, на дно которого налита смесь растворителей: бензин : бензол в соотношении 1:2, и плотно закрывают резиновой или стеклянной пробкой.

Через 10-15 минут растворитель поднимается по бумаге на 10-12 см, при этом пигменты распределяются на хроматографической бумаге в виде полос в определенном порядке (Рис. 1).

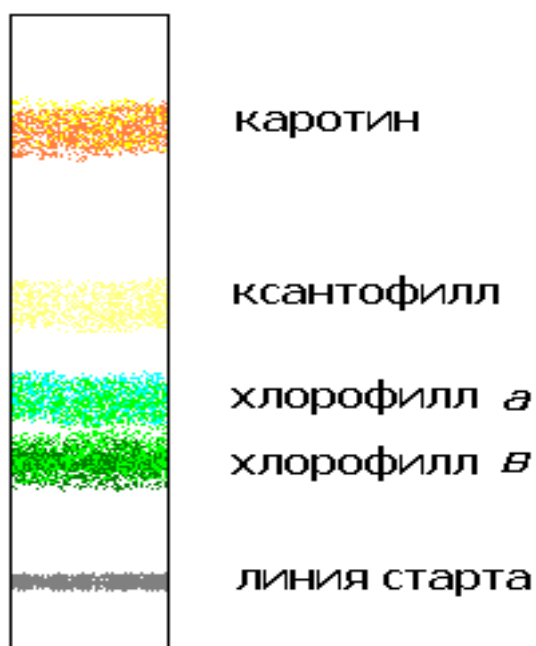


Рис. 1. Распределение растительных пигментов.

Полученную хроматограмму после высушивания клеивают в отчет, подписывают названия пигментов, делают выводы о причинах распределения пигментов на бумаге.

Работа 3. Сравнение качественного состава пигментов высших растений различных систематических групп.

Качественный состав растительных пигментов у растений различных систематических групп может отличаться по составу. Для сравнения состава пигментов у растений различных систематических групп удобно использовать полоски хроматографической бумаги или пластинки силуфола – это пластинки для тонкослойной хроматографии на алюминиевой фольге, где в качестве сорбента используется силикагель, а связывающим веществом является крахмал. При использовании для анализа смеси растворителей, состоящей из гептана, ацетона, эфира, гексана можно сделать более точный анализ растительных пигментов.

Материалы и оборудование: 1) спиртовые вытяжки пигментов из растений различных систематических групп; 2) растворитель (гептан : ацетон: эфир : гексан – 10:10:3:10); 3) пластинки силуфола (3x15 см); 40 микропипетки на 0,1 мл; 4) вентилятор; 5) хроматографическая камера; 6) пинцет.

Ход работы.

Сначала готовятся спиртовые вытяжки растительных пигментов из листьев растений различных систематических групп (2-3 варианта) по методике, описанной в работе 1.

Затем на пластинки силуфола (на каждую вытяжку из одного растения используется своя пластинка) с помощью микропипеток наносится спиртовая вытяжка пигментов горизонтальной полоской на расстоянии 2 см от нижнего края пластинки. Полоски силуфола с нанесенными пробами вытяжек пигментов подсушивают струей воздуха с помощью вентилятора, после этого их помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную смесью растворителей следующего состава:

гептан : ацетон : эфир : гексан
10 : 10 : 3 : 10

Разгонку пигментов производят в прямоугольной стеклянной камере со смесью растворителей с плотно пригнанной крышкой и затемненной темной бумагой. Через некоторое время фронт растворителя поднимается вверх и доходит до 2 см от верхнего края пластинки. Хроматограмму вынимают из смеси растворителей, высушивают на воздухе.

На полученной хроматограмме отчетливо видны пятна, соответствующие различным пигментам: нижняя граница – старт, следующее после старта – неоксантин, далее вверх – виолаксантин, затем – лютеин + зеаксантин, хлорофилл b, хлорофилл a, артероксанти, феофитин,

самое верхнее пятно – каротины. У вытяжек некоторых растений отдельные пигменты могут отсутствовать (Рис.1).

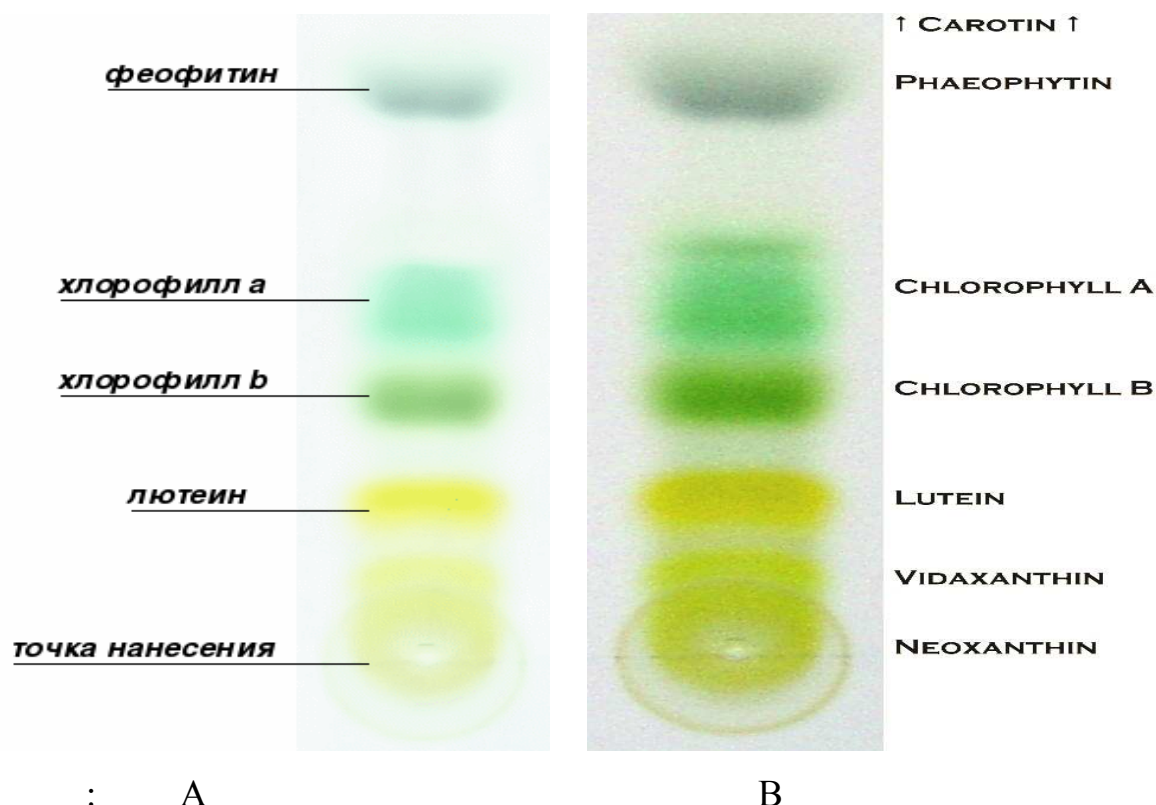


Рис. 1. Распределение пигментов у растений различных систематических групп (А и В).

Полученные хроматограммы вклеивают в отчет с помощью прозрачного скотча, расшифровывают, подписывают. Делают выводы о содержании и распределении пигментов у растений различных систематических групп.

РАЗДЕЛ V. ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ.

Дыхание растений – это сложный, многоступенчатый ферментативный процесс, протекающий в живой клетке и являющийся источником энергии и метаболитов для нее.

Дыхание является диссимиляционным процессом, при котором происходит расщепление органических веществ, при этом заключенная в них энергия аккумулируется в АТФ.

Дыхание можно представить как совокупность последовательных окислительно-восстановительных процессов (реакций), в ходе которых осуществляется постепенное окисление сложных органических веществ, выступающих в роли субстратов дыхания (белки, жиры, углеводы) до более простых метаболитов, а в конечном итоге – до углекислого газа и воды. Одним из внешних проявлений процесса дыхания является поглощение кислорода воздуха и выделение углекислого газа. При дыхании органические вещества с участием внешнего O_2 , который является акцептором электронов, превращаются в бедные энергией неорганические продукты (CO_2 и H_2O); этот процесс сопровождается большим выходом энергии.

Суммарное уравнение процесса дыхания:



Как видно из суммарного уравнения дыхания, скорость и интенсивность дыхания можно определить, измеряя скорость поглощения кислорода или выделения углекислого газа, выделяемых растительным организмом при дыхании. Это осуществляется различными методами: химическими, манометрическими, полярографическими.

Наиболее общий показатель скорости окисления – интенсивность дыхания. Другими показателями дыхательного метаболизма являются :

величина дыхательного коэффициента, соотношение гликолитического и пентозофосфатного путей распада сахаров, активность окислительно-восстановительных ферментов. Об энергетической эффективности дыхания можно судить по интенсивности окислительного фосфорилирования митохондрий.

Процессы дыхания в клетках растений обеспечиваются работой большого количества окислительно-восстановительных ферментов.

Ферменты, непосредственно осуществляющие окислительно-восстановительные реакции, направленные на утилизацию дыхательных субстратов, можно разделить на следующие группы:

1. Дегидрогеназы – ферменты, активирующие субстрат. При их действии акцептором электронов и протонов может выступать кислород или различные соединения, так называемые, промежуточные акцепторы (например, НАД и ФАД).

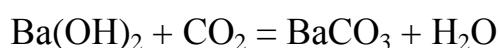
2. Оксидазы – ферменты, катализирующие перенос электронов на кислород. Их называют терминальными, поскольку катализируемый ими процесс представляет конечный этап окисления субстрата.

Особенностью растительной клетки является высокая гетерогенность терминальных оксидаз. Они завершают окислительные процессы, происходящие вне митохондрий. Многообразие альтернативных окислительных цепей позволяет компенсировать функции одной системы другими, что дает возможность быстрой и тонкой подстройки процесса дыхания растительной клетки к изменяющимся условиям окружающей среды. Ферменты оксидазы, каталаза, пероксидаза выполняют функцию защиты клетки от сильных окислителей - активированных форм кислорода, возникающих в процессе метаболизма.

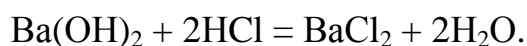
Эти показатели могут быть использованы для характеристики физиологических свойств и состояния растений в зависимости от условий окружающей среды.

Работа 1. Определение интенсивности дыхания по количеству выделенного диоксида углерода (по Бойсен-Йенсену).

Принцип метода состоит в учете изменения состава воздуха в замкнутом сосуде после выдерживания в нем целого растения или его частей. Прорастающие семена растений при дыхании выделяют углекислый газ. Для определения интенсивности дыхания по количеству выделяемого диоксида углерода в замкнутый сосуд (коническую колбу) помещают навеску растительного исследуемого материала и определенное количество раствора щелочи таким образом, чтобы растительный материал не соприкасался с реактивом. Выделяемый в процессе дыхания углекислый газ взаимодействует со щелочью, в результате чего концентрация раствора уменьшается. Углекислый газ поглощается баритом по уравнению:



Через некоторое время избыток барита, не прореагировавшего с углекислым газом, оттитровывают соляной кислотой:



Затем сравнивают полученную величину с результатом титрования такого же количества исходного раствора щелочи (без навески растений). Последнее необходимо для определения исходной концентрации барита и одновременно для учета небольшого количества углекислого газа, которое содержалось в сосуде до опыта, а также поглощаемого щелочью во время опыта и при открывании сосуда. Разность между результатами титрования содержимого контрольного и опытного сосудов прямо пропорциональна количеству выделенного при дыхании CO_2 .

Продолжительность экспозиции зависит от размера навески и от интенсивности дыхания исследуемого объекта. При очень короткой экспозиции между результатами титрования контрольной и опытной колб будет недостоверной. Напротив, если в колбе останется мало барита, то

может произойти неполное поглощение углекислого газа. Желательно подобрать такую экспозицию, чтобы на связывание углекислого газа было израсходовано 20-50 % щелочи (если, например, на титрование барита в контрольной колбе пошло 10 мл HCl, то на титрование раствора в опытной колбе должно пойти не более 8 мл и не менее 5 мл соляной кислоты).

Материалы и оборудование: 1) проросшие семена, либо почки, листья, стебли, цветки растений; 2) 0,025 Н раствор Ba(OH)₂; 3) 0,025 Н раствор HCl; 4) фенолфталеин в капельнице; 5) технические весы с разновесами; 6) одинаковые конические колбы на 250-300 мл с пробками, в которые вставлены металлические крючки, б) пробки для колб с вставленными в них двумя стеклянными трубочками для титрования; 7) марлевые салфетки 10x10 см; 8) бюретки.

Ход работы. Поместить навеску растительного материала (не нужно его сильно измельчать, чтобы не вызвать усиление интенсивности дыхания на поранение) в марлевую салфетку, обвязать ниткой и закрепить на металлическом крючке под пробкой так, чтобы он не опускался слишком низко (Рис. 1)

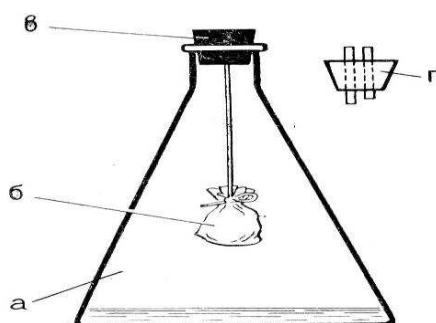


Рис. 1. Прибор для определения интенсивности дыхания: а – колба с баритом на дне; б – марлевый мешочек с растительным материалом; в – пробка с металлическим крючком; г – пробка со стеклянными трубками.

Провести пробную сборку установки, проверив свободное прохождение мешочка с пробой через горлышко колбы.

Затем внести в колбу 2-3 капли фенолфталеин налить 20 мл 0,025 Н Ва(ОН)₂, быстро опустить в колбу растительный материал, слегка смочив пробку водой для герметичности и плотно закрыть колбу пробкой. Отметить начало экспозиции. В контрольную (пустую) колбу также налить 20 мл барита и 2-3 капли фенолфталеина и плотно закрыть пробкой. Обе колбы выдерживают в темноте для исключения фотосинтеза.

Время от времени колбы покачивают осторожно, чтобы разрушить на поверхности раствора пленку ВаСО₃, препятствующую поглощению СО₂, не допуская попадания капель щелочи на мешочек с пробой.

По окончании опыта (через 30-60 мин) в обеих колбах пробки заменяют на пробки с трубочками для титрования. Их оттитровывают 0,025 НСІ до исчезновения розового оттенка в растворе. Чтобы избежать уменьшение концентрации раствора барита в колбе, желательно на вторую трубочку в пробке прикрепить трубку с натронной известью. Данные опытов заносят в таблицу 1.

Таблица 1.

Определение интенсивности дыхания в растительном материале.

Наименование объекта	Вес материала, г	Время опыта, мин.	Объем барита, мл	Количество соляной кислоты (титрование), мл		Интенсивность дыхания мг/г сыр. семян
				Контроль А	Опыт В	

Интенсивность дыхания рассчитывается по формуле:

$$I = (A - B) \times K \times 0,55 / P \times T \text{ (мг СО}_2\text{/г сыр. веса за час), где:}$$

А - количество мл 0,025 Н НСІ, израсходованное на титрование барита в контрольной колбе;

В - количество мл 0,025 N HCl, израсходованное на титрование барита в опытной колбе;

К - поправка к титру барита;

0,55 – количество мг CO₂, эквивалентное 1 мл 0,025 N HCl;

Р - навеска растительного материала в г;

Т - время экспозиции, 1 час

Делаются выводы по изучению интенсивности дыхания растительного материала по учету количества выделившегося CO₂.

Работа 2. Определение дыхательного коэффициента у прорастающих семян.

Растения в процессе дыхания используют в качестве субстратов чаще всего сахара, а также другие субстраты. Важным показателем химической природы дыхательного субстрата является дыхательный коэффициент – ДК, то есть отношение выделенного объема CO₂ к объему поглощенного кислорода:

$$\text{ДК} = V_{\text{диоксида углерода}} / V_{\text{кислорода}}.$$

При окислении углеводов дыхательный коэффициент равен 1. При окислении жиров, более восстановленных соединений, кислорода поглощается больше, чем выделяется углекислого газа, и ДК меньше 1. При окислении органических кислот, менее восстановленных, чем углеводы, ДК больше единицы. 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 ДК. Величина ДК также обусловлена полнотой окисления субстрата. Если кроме конечных продуктов в тканях накапливаются менее окисленные соединения, например, органические кислоты, то ДК будет меньше 1.

Материалы и оборудование: 1) набухшие семена льна, подсолнечник или конопля; 2) фильтровальная бумага; 3) ножницы; 4) пинцет; 5) водяная баня; 6) термометр; 7) прибор для определения дыхательного коэффициента; 8) 20 %раствор КОН; 9) фарфоровый стакан; 10) пипетка на 1 мл.

Ход работы. Для определения дыхательного коэффициента у прорастающих семян используют специальный прибор, состоящий из большой пробирки с плотно пригнанной каучуковой пробкой, в которую вставлена изогнутая под прямым углом стеклянная трубочка с прикрепленной к ней полоской миллиметровой бумаги. Половину пробирки засыпают проросшими семенами пшеницы, конопля, подсолнечника, льна, плотно закрывают пробирку пробкой с измерительной трубкой. Затем пробирку опускают в фарфоровый стакан с водой ($T=30$ град. С, температура должна оставаться постоянной на протяжении всего опыта).

Измерительную трубку устанавливают в горизонтальном положении и в ее конец с помощью пипетки вводят небольшую каплю воды. Затем измеряют, на сколько делений шкалы продвинется капля внутрь трубки за 2 минуты. Для получения точного результата вычисляют среднюю величину от нескольких измерений. Полученная величина (A , мм) выражает разницу между объемом поглощенного при дыхании кислорода и объемом выделенного углекислого газа.

Далее открывают пробирку с проросшими семенами и вкладывают в нее пинцетом свернутую в кольцо полоску фильтровальной бумаги, смоченную 20 % раствором едкого натра, снова закрывают пробирку, вводят новую каплю воды в трубочку и продолжают измерение скорости ее движения при той же температуре. Делают отсчеты, из которых опять вычисляют среднюю величину за тот же период времени, которые выражают объем поглощенного при дыхании кислорода (B , мм), так как

выделенный углекислый газ поглощается щелочью. По формуле вычисляют дыхательный коэффициент:

$$DK = V - A/V \text{ где;}$$

A – разница между объемом поглощенного при дыхании кислорода

И объемом выделенного углекислого газа в условных единицах;

V – объем поглощенного при дыхании кислорода, выраженный в Условных единицах.

Полученные результаты заносятся в таблицу 1.

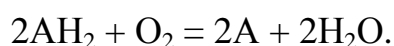
Таблица 1.

Условия опыта	Измерения (мм за 2 минуты)				Величина дыхательного коэффициента, усл. ед.
	1	2	3	4	
Без щелочи (А)					
Со щелочью (В)					

По результатам опытов делаются выводы по изучению дыхательного коэффициента у прорастающих семян.

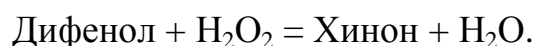
Работа 3. Определение ферментов пероксидазы и полифенолоксидазы в клубне и соке картофеля.

Оксидазами называют ферменты, активирующие молекулярный кислород (переносящие на него электроны от окисляемого вещества). Активированный таким образом кислород соединяется с отщепляемым от субстрата водородом, образуя воду или пероксид водорода по схеме:



К этой группе ферментов относится полифенолоксидаза, окисляющая полифенолы кислородом воздуха с образованием соответствующих хинонов.

Пероксидаза – фермент, катализирующий окисление полифенолов и некоторых ароматических аминов с помощью кислорода, перекиси водорода или органических перекисей:



Материалы и оборудование: 1) свежие клубни картофеля и вареный картофель; 2) скальпель, 3) терка; 4) марлевая салфетка 10x10 см; 5) ножницы; 6) микроскоп; 7) фарфоровая чашка; 8) пипетки; 9) пробирки; 10) 1 % спиртовой раствор гваяколовой кислоты; 11) 3 % раствор H_2O_2 ; 12) 1 % раствор гидрохинона; 13) спиртовка; 14) держатели для пробирок.

Ход работы.

1. Определение полифенолоксидазы.

Обнаружить полифенолоксидазу можно при помощи раствора гваяколовой смолы, который в присутствии этого фермента изменяет окраску с желтой на синюю, это объясняется тем, что содержащиеся в гваяколовой смоле полифенолы, не способны самопроизвольно реагировать с молекулярным кислородом, он окисляется только активированным кислородом.

Помещают на предметное стекло тонкий срез клубня картофеля и наносят на него 1 % раствор гваяколовой кислоты, наблюдают под микроскопом за изменением окраски на срезе. Для контроля обрабатывают таким же образом материал, предварительно подвергнутый кипячению (вареный картофель). Зарисовывают результаты опыта и делают выводы о действии полифенолоксидазы на гваяколовую кислоту

2. Определение пероксидазы.

Обнаружение пероксидазы в соке клубня картофеля основано на изменении окраски сока при окислении полифенолов в хиноны со светло-бурой на темно-бурую.

Натирают на терке очищенный клубень картофеля, отжимают сок через марлю и собирают его в круглую фарфоровую чашку. Дают осесть крахмалу. Затем берут четыре пробирки, в которые наливают по 5 мл 1 % раствора гидрохинона. В первую пробирку добавляют 1 мл 3 % раствора перекиси водорода и один мл картофельного сока, во вторую – 1 мл 3 % раствора перекиси водорода, в третью – 1 мл картофельного сока, в четвертую – 1 мл картофельного сока, предварительно прокипяченного в течение минуты и 1 мл перекиси водорода и 1 мл раствора гидрохинона. При окислении гидрохинона в хинон происходит побурение раствора. Наблюдается некоторое побурение самого картофельного сока без добавления гидрохинона и перекиси водорода, что связано с действием полифенолоксидазы, окисляющей полифенолы тканей картофеля с участием молекулярного кислорода.

Полученные результаты заносятся в таблицу 1

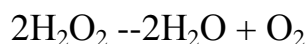
Таблица 1.

№ варианта	Состав смеси в пробирках			Окраска Раствора в пробирках
	Картофельный сок, содержащий пероксидазу	H ₂ O ₂	Гидрохинон	
1	+	+	+	
2	-	+	+	
3	+	-	+	
4	прокипяченный	+	+	

По результатам работы делают выводы о действии пероксидазы на полихиноны в присутствии перекиси водорода.

Работа 4. Определение ферментов каталазы в листьях растений и дегидрогеназы в клубне картофеля.

Каталаза выполняет в клетках функцию нейтрализации активного и опасного для живых клеток окислителя – пероксида водорода, катализируя реакцию:



Этот фермент особенно активен в молодых растущих тканях, а также в зеленых листьях, где участвует в процессе фотодыхания. Об активности каталазы судят по выделяющемуся кислороду, выделяющегося при разложении перекиси водорода.

Дегидрогеназы – ферменты, катализирующие отщепление водорода от дыхательного субстрата и перенос его к промежуточным или конечным акцепторам водорода.

Обнаружение дегидрогеназ основано на введении в живую растительную ткань акцептора водорода – динитробензола, восстановление которого сопровождается изменением окраски с бесцветной на желтую. Если к конечным продуктам этой реакции добавить раствор аммиака (щелочная среда), то появится пурпурное окрашивание.

Материалы и оборудование: 1) листья различных растений или побеги элодеи; 2) клубень картофеля; 3) скальпели; 4) пинцеты; 5) спиртовки; 6) пробирки; 7) держатели для пробирок; 8) штативы для пробирок; 9) микроскопы; 10) предметные стекла; 11) чашки Петри; 12) пипетки на 1 мл; 13) 3 % раствор H_2O_2 ; 14) насыщенный раствор динитробензола; 15) 10% раствор аммиака.

Ход работы.

1. Определение каталазы.

Для работы используют целые листья элодеи или делают срезы других растений толщиной 0,5-1 мм (опыт). Часть срезов готовят из

предварительно убитых в кипятке листьев (контроль). Живые и убитые срезы помещают на предметное стекло в каплю, воды, и добавляют несколько капель 3 % раствора H_2O_2 . Рассматривают в микроскопе при малом увеличении опытные и контрольные срезы, отмечая появление пузырьков кислорода в живых тканях.

Результаты зарисовывают, делают выводы, объясняя появление или отсутствие пузырьков кислорода на разных срезах.

2. Определение дегидрогеназы.

В две пробирки наливают по 5 мл насыщенного раствора динитробензола. Из свежего клубня картофеля вырезают два одинаковых столбика длиной 3-4 см и толщиной около 1 см. Ткани одного из них убивают кипячением в воде в течение 1-2 минут. В каждую пробирку с раствором динитробензола погружают живую ткань картофеля (опыт) и мертвую (контроль) и выдерживают 1 час при комнатной температуре или 30 минут в термостате при температуре 30-35 град С. Затем сравнивают и зарисовывают окраску столбиков картофеля и растворов в обеих пробирках. После этого подщелачивают содержимое обеих пробирок, добавив по 10-15 капель 10 % раствора аммиака. Через 5-15 минут, когда аммиак проникнет в ткани столбиков, вновь сравнивают окраску в пробирках, зарисовывают полученные результаты.

Делают выводы о наличии и активности дегидрогеназ в мертвых и живых тканях картофеля.

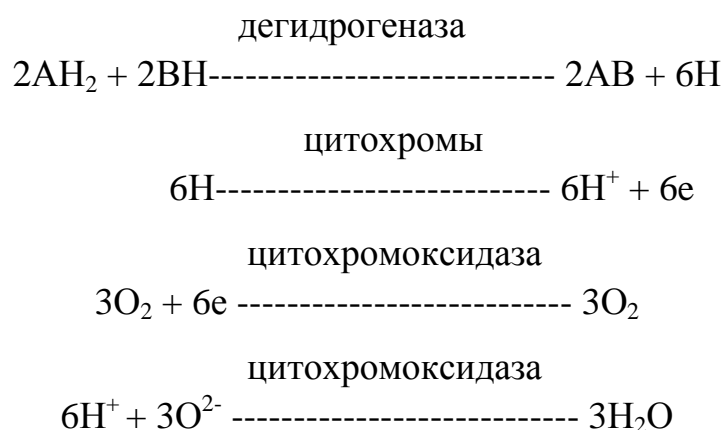
Работа 5. Определение фермента цитохромоксидазы в растительных тканях

Цитохромоксидаза вместе с цитохромами образует цитохромоксидазную окислительную систему дыхания, которая действует в клетке вместе с дегидрогеназами. Цитохромоксидаза отнимает электроны

от цитохромов, передавая их на молекулярный кислород воздуха. Затем цитохромы вновь получают электроны от водорода, отнятого дегидрогеназами от окисляемых веществ. Происходит одновременная активация кислорода и водорода, которые реагируют с образованием воды.

Для выявления фермента цитохромоксидазы в растительных тканях используется смесь восстановленных веществ: диметил-пара-фенилендиамина и альфа-нафтола ($2\text{АН}_2 + 2\text{ВН}$). При окислении этих веществ образуется окисленное вещество (2АВ), которое дает синюю окраску – это образуется индофиниловый синий.

Схематично эту реакцию можно представить так:



Материалы и оборудование: 1) проростки пшеницы, кукурузы, ячменя, листья растений; 2) предметные стекла; 3) скальпели или бритвы; 4) микроскопы; 5) 0,66 М фосфатный буфер рН=5,8; 6) 0,01 М раствор диметил-пара-фенилендиамина в фосфатном буфере; 7) 0,01 М раствор альфа-нафтола в фосфатном буфере. 8) спиртовка; 9) пробирки; 10) держатель для пробирок; 11) штатив; 12) пинцет.

Ход работы. Перед началом работы готовят реактив «нади»: сливают реактивы под номерами 6 и 7 в соотношении 1:1. На предметное стекло помещают срез живой растительной ткани (опыт) и срез убитой кипячением ткани, на которые наносят каплю реактива «нади». Наблюдают наличие или отсутствие окрашивания на срезах в микроскоп.

По результатам опыта делают рисунки и выводы.

РАЗДЕЛ VII. РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ.

Рост и развитие растений – важнейшие физиологические процессы, протекающие в растительном организме.

Рост – необратимое увеличение размеров и массы тела, связанное с новообразованием элементов структуры организма. Рост растений складывается из роста клеток, тканей и органов. Общий закон роста – неравномерность и периодичность что обусловлено внутренними причинами.

Развитие – качественные изменения структуры и функций растительного организма и его отдельных составляющих – органов, тканей и клеток, возникающий в процессе онтогенеза.

Все процессы роста и развития растений осуществляются через деление, растяжение и дифференциацию клеток (приобретение клеткой специальной функции в процессе развития). Рост в длину и ветвление побегов и корней происходит благодаря деятельности апикальных меристем верхушек побегов и кончиков корней, рост в толщину – благодаря деятельности клеток камбия. Каждая клетка в процессе развития проходит фазы: 1) меристематическую или эмбриональную; 2) роста или растяжения; 3) дифференциации.

К важным внутренним факторам роста и развития растений относятся вещества высокой физиологической активности, содержащиеся в растениях, - *фитогормоны* – регуляторы роста и развития растений. К ним относятся стимуляторы роста (цитокнины, ауксины, гиббереллины) и ингибиторы роста (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота в больших концентрациях, бензойная, коричная, салициловая кислоты, кумарин, абсцизовая кислота и др.). Эти вещества образуются в одних тканях и органах растения, а действуют на другие. В зависимости от физиологического состояния растений фитогормоны могут стимулировать

или ингибировать те или иные процессы, происходящие в растениях. Искусственные фитогормоны широко применяют для укоренения черенков, подавления роста сорняков, нарушения или создания покоя у растений, опадения листьев и лишних завязей, усиления или торможения роста, предуборочного высушивания листьев и т. д.

На рост и развитие растений также очень сильно влияют внешние факторы: интенсивность и спектральный состав света, продолжительность дня и ночи, температура воздуха и почвы, влажность и наличие органических и минеральных веществ в почве, смена времен года.

В течение жизни растения осуществляют ростовые движения, изменяя положение своих органов в пространстве. Различают два основных типа ростовых движений: тропизмы и настии.

Тропизмы – ориентированные ростовые движения отдельных органов растения в ответ на одностороннее действие внешнего раздражителя: фототропизм – реакция на источник света; геотропизм – реакция на земное притяжение и т.д. **Настии** – движение органов растений в ответ на изменение диффузно действующих факторов внешней среды (свет, температура и др.)

В природе у растений наблюдается чередование периодов интенсивного роста и периодов покоя – **периодичность роста растений**, связанная с периодической сменой времен года, наступления зимы, сезона дождей, засухи. При этом у растений отмечается **вынужденный покой**, обусловленный неблагоприятными внешними условиями, и **глубокий покой**, связанный с особенностями внутреннего ритма развития растений.

Для некоторых растений характерен **фотопериодизм** – реакция растений на продолжительность дня и ночи, которая выражается в их приспособлении к длине светового дня, влияющая на вызревание древесины, переход почек к покою, времени листопада, вегетативное и генеративное развитие у однолетников, двулетников, многолетников.

Работа 1. Определение зон роста в органах растений.

Для изучения ростовых процессов широко применяют метод нанесения меток на поверхность растущего органа растения через одинаковые расстояния. По мере роста органа эти расстояния увеличиваются и могут быть использованы для характеристики интенсивности роста различных участков растущей зоны органа.

Метки наносятся тушью или маркировочной жидкостью. Для их нанесения используют щетинку, прикрепленную к палочке, тонко заточенную деревянную палочку или нитку, смоченную маркировочной жидкостью.

Материалы и оборудование: 1) проростки гороха с длиной корней 1,5-2 см; 2) проростки подсолнечника высотой 2-3 см; 3) тушь или маркировочная жидкость черного цвета; 4) инструмент для нанесения меток на органы растения; 5) препаровальные иглы; 6) линейки; 7) древесные опилки; 8) влажные камеры для роста растений; 9) плоские глубокие сосуды для проращивания семян; 10) пинцеты; 11) миллиметровая бумага.

Ход работы.

1. Определение зоны роста корня.

Берут семена гороха (фасоли, конских бобов или кукурузы), проращивают их во влажных опилках в сосудах, закрытых стеклом (слой опилок в них должен быть толщиной не менее 3-4 см), в которых стеклянной палочкой делают углубления для свободного и строго вертикального роста корня. Затем на небольших (длиной 1,5-2 см) совершенно прямых, предварительно осторожно обсушенных фильтровальной бумагой корнях (3-4 корня), наносят метки, начиная от кончика корня на расстоянии 1 мм одной от другой (около 15-20 меток). Они должны быть тонкими и хорошо заметными.

Далее проростки помещают в благоприятные для роста условия: во влажную камеру в темной комнате при температуре 20-25 град. С. Через сутки измеряют расстояния между метками и вычисляют средний суточный прирост различных участков корня. Результаты опыта заносят в таблицу 1.

Таблица 1.

Изучение прироста различных зон корня гороха.

Номер отрезка	Зона прироста корня, мм																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Номер проростка																		
1																		
2																		
3																		
4																		

Результаты эксперимента также выражают графически, откладывая на оси абсцисс номера отрезков корня, а на оси ординат – длину соответствующих приростов корня. Делают выводы о характере роста корня гороха.

2. Определение зоны роста стебля.

На четырех проростках подсолнечника высотой 2-3 см, начиная от верхушки проростка, тушью наносят по 10 меток на расстоянии 2 мм друг от друга. Проростки помещают в темноту при температуре 20-25 град. С. Через сутки измеряют расстояния между метками и вычисляют прирост различных участков стебля.

Результаты опыта заносят в таблицу 2.

Таблица 2.

Изучение прироста различных зон стебля подсолнечника.

Номер отрезка	Зона прироста стебля, мм									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Но- мер про- ростка										
1										
2										
3										
4										

Результаты эксперимента также выражают графически, откладывая на оси абсцисс номера отрезков стебля, а на оси ординат – длину соответствующих приростов стебля. Делают выводы о характере роста стебля подсолнечника.

Работа 2. Влияние действия гетероауксина на рост корней у проростков

Гетероауксин оказывает действие на рост корней у растений. Оптимальные концентрации гетероауксина вызывают усиление корнеобразования у растений. Малые концентрации препарата не оказывают влияния на корнеобразование, избыточные концентрации гетероауксина приводят к угнетению роста корней.

Материалы и оборудование: 1) семена различных растений (пшеницы или кукурузы); 2) чашки Петри (5 штук); 3) 0,01 % раствор гетероауксина; 4) фильтровальная бумага; 5) термостат; 6) линейки; 7) пробирки; 8) пипетки на 1 и 10 мл.

Ход работы. Сначала готовят растворы гетероауксина нужных концентраций. Для этого берут 1 мл исходного 0,01 % раствора гетероауксина помещают его в пробирку и добавляют 9 мл воды, перемешивают его и получают 0,001 % раствор гетероауксина; затем берут 1 мл 0,001 % раствора гетероауксина, помещают в пробирку и добавляют 9 мл воды – получают 0,0001% раствор гетероауксина; берут 1 мл 0,0001 % раствора гетероауксина, помещают в пробирку и добавляют 9 мл воды – получают 0,00001 % раствор гетероауксин.

Берут 5 чашек Петри, на дно которых уложены фильтровальная бумага. В первую добавляют 9 мл воды (контроль); во вторую – 9 мл 0,01 % раствора гетероауксина, в третью – 9 мл 0,001 % раствора гетероауксина, в четвертую – 9 мл 0,0001 % раствора гетероауксина, в пятую – 9 мл 0,00001 % раствора гетероауксина (контрольные варианты).

На увлажненную фильтровальную бумагу в каждую чашку раскладывают по 5 зерновок кукурузы или пшеницы и закрывают чашки Петри крышками. Затем их помещают в термостат с температурой 25 град. С, снабдив этикетками. Через неделю измеряют длину всех образовавшихся корешков в контрольном и опытных вариантах. Результаты измерений заносят в таблицу 1.

После обработки полученных результатов делают выводы о влиянии различных концентраций гетероауксина на рост корней у злаковых культур.

Таблица 1.

Изучение влияния различных концентраций гетероауксина на рост корней у злаковых растений.

Вариант опыта	Суммарная длина корешков, см	Средняя длина корешков на одно растение, см	Длина корешков, % к контролю
Водопроводная вода (контроль)			
Гетероауксин: 0,01 % 0,001 % 0,0001 % 0,00001 %			

Работа 3. Влияние гетероауксина на укоренение черенков фасоли.

Гетероауксин вызывает усиленное образование корней у черенков травянистых (особенно у фасоли) и древесно-кустарниковых растений. На этом основано его использование в питомниках для ускоренного размножения посадочного материала.

Материалы и оборудование: 1) десятидневные проростки фасоли; 2) 0,01 % раствор гетероауксина; 3) пинцеты; 4) химические стаканы на 200 мл; 5) скальпели; 6) кристаллизатор.

Ход работы. Берут десятидневные проростки фасоли высотой 11-13 см. Срезают скальпелем у основания шесть одинаковых по высоте и общему развитию проростка, подрезают их под водой в кристаллизаторе примерно на 1 см. Три проростка (контроль) помещают в стакан с водопроводной водой, три других (опыт) помещают в такую же посуду с 0,01 % раствором гетероауксина на 3 часа.

Затем черенки вынимают из раствора гетероауксина, ополаскивают водопроводной водой, погружают в воду на глубину 4-5 см и оставляют вместе с контрольным вариантом на свету при температуре 20-25 град. С до образования корней. Через неделю учитывают число образовавшихся корней у черенков, обработанных гетероауксином и контрольных. Определяют среднее количество образовавшихся корешков на одно растение в опытном и контрольном варианте. Фотографируют или зарисовывают опыт и контроль. Полученные результаты заносят в таблицу 1.

Таблица 1.

Изучение влияния гетероауксина на образование корней у черенков фасоли.

Вариант опыта	Среднее число образовавшихся корешков на одно растение, шт.	Результат действия гетероауксина, % к контролю
Водопроводная вода (контроль)		
0,01 % раствор гетероауксина		

После обработки полученных результатов делают выводы о влиянии гетероауксина на образование корней у черенков фасоли.

Работа 4. Влияние гибберелловой кислоты на рост междоузлий стебля карликового гороха.

Гибберелловая кислота (ГК) – природный регулятор роста из группы гиббереллинов. Она оказывает стимулирующее влияние на рост надземной

части растений, в частности на растяжение их междоузлий. При этом следует учитывать, что растяжение междоузлий разных ярусов под действием ГК может иметь количественные различия. Поэтому рекомендуется учитывать при изучении влияния обработки растений ГК не только изменение размеров всего стебля, но и его отдельных междоузлий. В качестве объекта исследования удобно использовать молодые растения карликового гороха.

Материалы и оборудование: 1) литровые сосуды с выращенными 2-3-х недельными растениями карликового гороха (песчаная или водная культура) – по два растения на одну повторность; 2) 0,01 % раствор ГК; 3) один пульверизатор для воды, другой – для раствора ГК; 4) линейки для измерения.

Ход работы. Берут два сосуда с 2-3-х недельными растениями карликового гороха примерно одинаковой высоты, маркируют их (1 – опыт, 2 – контроль). У каждого растения измеряют длину междоузлий каждого яруса и суммарно всего стебля. Записывают результаты.

Затем растения в сосуде № 1 (контроль) водой, а растение в сосуде № 2 - 0,01 % раствором ГК. Объем раствора в обоих случаях равен 1 мл. Оба сосуда помещают на свет на 1 неделю. Через 7 дней фотографируют или зарисовывают результаты опыта. Повторно измеряют длину всех междоузлий, длину стебля, и вновь образовавшихся междоузлий. Исходные и полученные данные заносят в таблицу 1. На основе первого и второго измерений высчитывают приросты междоузлий и стебля у контрольных и обработанных ГК растений. Затем приросты опытных растений выражают в процентах от контроля.

После обработки полученных результатов делают выводы о влиянии ГК на рост междоузлий и стебля карликового гороха.

Таблица 1.

Изучение влияния ГК на рост стеблей и междоузлий у карликового гороха.

№ меж-доуз-лия	Контрольные растения		Растения, обработанные ГК				
	Длина, мм		При-рост, мм	Длина, мм		Прирост	
	Исход-ная	Конеч-ная		Исход-ная	Конеч-ная	В мм	% к кон-тролю
1							
2							
3							
...							
Стебель							

Работа 5. Избирательное (селективное) действие гербицида 2,4-Д на рост двудольных сорняков.

Селективные гербициды – химические вещества с высокой биологической активностью, которые в определенных дозах уничтожают сорняки, не повреждая культурные растения. Для борьбы с двудольными сорняками в посевах злаковых или на газоне применяют производные феноксипропановой кислоты, в частности дихлорфеноксипропановую кислоту (2,4-Д). Натриевая соль 2,4-Д хорошо растворяется в воде.

В концентрациях 0,01-1 % 2,4-Д подавляет рост и развитие сорных двудольных растений и не повреждает злаковые растения. При этом важно строгое соблюдение концентрации раствора 2,4-Д при обработке сорняков, поскольку при очень низких концентрациях 2,4-Д может стимулировать ростовые процессы, а в более высоких (больше 1 %) – угнетать рост и

После обработки полученных результатов делают выводы о селективном влиянии гербицида 2,4-Д на сорняки двудольных растений.

Работа 6. Обнаружение положительного геотропизма у корня двудольных растений.

Способность растений реагировать на земное притяжение называется геотропизмом. Положительно геотропные органы растут к центру Земли (корень), а отрицательно геотропные – в направлении от центра Земли. Установлено, что роль рецепторов, воспринимающих силу тяжести, выполняют зерна крахмала, осаждающиеся на нижней стороне клетки и влияющие на распределение ростовых веществ. Геотропические изгибы корней происходят под действием ауксина, от концентрации которого в клетках зависят различные направления геотропизма.

Материалы и оборудование: 1) проростки гороха, фасоли, кукурузы, конских бобов с пряморастущим вниз главным корнем до 1,5 см длиной; 2) три стакана или банки емкостью 0,5 л; 3) девять предметных стекол; 4) фильтровальная бумага темного или серого цвета; 5) тонкий шпагат или резинка для укрепления проростков и бумаги на предметном стекле; 6) вода водопроводная.

Ход работы. На предметные стекла, предварительно обернутые фильтровальной бумагой, прикрепляют проростки растений. На трех стеклах закрепляют проростки с направленными вертикально вниз корнями и помещают их в первую банку. К следующим трем стеклам прикрепляют проростки, корни которых направлены вертикально вверх, и помещают их во вторую банку. К последним трем стеклам прикрепляют проростки, корни которых направлены под углом к горизонтальной плоскости, и помещают их в третью банку. На дно всех трех банок налито немного воды, благодаря чему бумага, на которой находятся проростки и

воздух в банках увлажнены. Банки закрывают неплотно стеклянными крышками. Через сутки наблюдают геотропические изгибы корней.

По результатам опыта делают выводы об обнаружении положительного геотропизма корня у двудольных растений, зарисовывают или фотографируют полученные образцы.

Работа 7. Обнаружение фототропизма побега или его частей у проростков злаков.

Положительный фототропизм органа растения (листа, побега, цветоножки) – это результат задержки роста органа на освещенной его стороне и усиление роста на затемненной его стороне. Орган изгибается в сторону наименьшего роста. Причина этого явления связана с действием ауксинов, которые образуются в точке роста стебля и молодых листьях, движутся вниз по стеблю, снижают величину внеклеточного рН в этой области, в клетку проникает вода, ее оболочка растягивается, образуется дополнительный материал клеточной стенки, стебель изгибается в сторону источника света, вызывая фототропизм.

Материалы и оборудование: 1) проростки злаков ячменя или пшеницы; 2) Два сосуда (контейнера) с почвой или влажными опилками; 3) фототропическая камера; 4) настольная лампа или яркий солнечный свет.

Ход работы. Высаживают густо пророщенные семена ячменя или пшеницы в два контейнера в почву или опилки и выращивают растения до высоты 4-5 см. Один контейнер с проростками помещают в условия одностороннего освещения (в фототропическую камеру), второй контейнер оставляют на диффузном ярком освещении. Фототропическую камеру можно изготовить из картона. Ее внутренние стенки обклеивают черной бумагой, а на одной из сторон, обращенной к источнику света прорезают отверстие на высоте, соответствующей расположению

надземной части проростков. Через два подводят итоги опыта, делают рисунки или фотографии.

По результатам опыта делают выводы об обнаружении фототропизма побегов у злаков.

Литература

1. Алехина, Н. Д. Физиология растений: учебник для студентов вузов по направлениям подготовки бакалавров и магистров «Физиология растений» / Н. Д. Алехина, Ю. В. Балнокин, В. Ф. Гавриленко [и др.] - М. : Academia, 2005. - 640 с.
2. Влияние условий минерального питания на рост и развитие растений : учеб.-метод. пособие для студентов вузов по направлениям подготовки 020200 «Биология» и 020800 «Экология» / сост. Л. Н. Курганова, Ю. В. Сеницына ; Нижегород. гос. ун-т. - Н. Новгород : ННГУ, 2005. - 20с.
3. Анализ сока растений с помощью полевой лаборатории Магницкого : метод. разработки для студентов по курсу «Физиология растений» / сост. Т. А. Булатова ; Горьк. гос. ун-т – Горький : ГГУ, 1977. – 8 с.
4. Минеральное питание растений : метод. указания для выполнения лаборатор. работ по физиологии растений студентами по направлению «Биология» / сост. Л. Н. Курганова, Л. Н. Чернорукова ; Нижегород. гос. ун-т. - Н. Новгород : ННГУ, 1998. – 10 с.
5. Практикум по физиологии растений: учеб. пособие для студентов высш. с.-х. учебных заведений / под ред. Н. Н. Третьякова. - М. : Колос, 1982. - 272 с.
6. Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В., Фаттахова Н.Н. Практикум по физиологии и биохимии растений/Режим доступа: biology.krc.karelia.ru:8080/.../Практикум%20по%20физиологии%20.

Юртаева Наталья Михайловна

Минеральное питание растений.

Методические указания для выполнения лабораторных работ по дисциплине «Физиология растений» студентами очной формы обучения по направлению подготовки 35.03.10 «Ландшафтная архитектура» - Н. Новгород: Нижегородский государственный архитектурно-строительный университет, 2014. – 27 с.

Подписано в печать _____ Формат 60x90 1/16. Бумага газетная. Печать трафаретная

Уч. изд. Л . Усл. Печ. л . Тираж 60 экз. Заказ №

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Нижегородский государственный архитектурно-строительный университет» 603950, Н.Новгород, Ильинская 65. Полиграфцентр ННГАСУ, 603950, Н.Новгород, Ильинская 65.