

Ж. Э. Мазец, И. И. Жукова, А. А. Деревинская

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.1(076.8)

ББК 28.57я73

М155

Печатается по решению редакционно-издательского совета БГПУ

Рецензенты:

Жарина И. А., доцент кафедры естествознания УО «Могилевский
государственный университет имени А. А. Кулешова»,
кандидат биологических наук, доцент;
кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений БГУ
(заведующий В. В. Демидчик)

Мазец, Ж. Э.

М155 Физиология растений : практикум / Ж. Э. Мазец, И. И. Жукова,
А. А. Деревинская. – Минск : БГПУ, 2017. – 176 с.

ISBN 978-985-541-376-0.

Пособие содержит лабораторные работы по основным разделам курса «Физиология растений», позволяющие получить представления о физиологических процессах, происходящих в растительном организме, и методах их исследования.

Адресуется студентам педагогических вузов, обучающимся по биологическим специальностям, предназначено для самостоятельного контроля знаний по теоретическому и лабораторному курсу «Физиология растений».

УДК 581.1(076.8)

ББК 28.57я73

ISBN 978-985-541-376-0

© Мазец Ж. Э., Жукова И. И., Деревинская А. А., 2017

© Оформление. БГПУ, 2017

ТЕМА 1. ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Работа 1. Изучение плазмолиза и деплазмолиза в растительных клетках

В настоящее время явление плазмолиза широко используется в экспериментальной цитологии и физиологии растений для определения осмотического потенциала, вязкости цитоплазмы, клеточной проницаемости, доказательства жизнеспособности растительных клеток. Для наблюдения явления плазмолиза клетки помещают в раствор плазмолитика, например в гипертонический солевой раствор. В этом случае возникает осмотический ток воды из клеток, что приводит к уменьшению объема протопластов и их отделению от клеточных стенок (происходит плазмолиз). Эластичная цитоплазма сокращается вслед за вакуолью, а клеточная оболочка лишь теряет напряженное состояние, но не сокращается, поэтому между ней и протопластом возникает промежуток, заполняемый внешним раствором. Плазмолиз, процесс характерный только живым клеткам, является обратимым.

Время плазмолиза – это промежуток времени от погружения клеток в гипертонический раствор до появления выпуклого плазмолиза более чем у половины клеток в поле зрения микроскопа. Время плазмолиза находится в прямой зависимости от вязкости цитоплазмы. Чем ниже вязкость, тем легче цитоплазма отстает от клеточной оболочки и промежуточный, вогнутый плазмолиз быстрее переходит в выпуклый, то есть время плазмолиза меньше (рисунок 1.1).

Если переход от вогнутого к выпуклому плазмолизу не происходит в течение длительного времени наблюдения, то отмечают, что время плазмолиза данного объекта более 20 минут. В качестве плазмолитика в нашем случае используется 0,8М раствор NaCl или 1М раствор сахарозы.

При замене гипертонических растворов плазмолитиков водой градиент водного потенциала меняет свое направление, вода начинает поступать из раствора в вакуоль, то есть в клетке происходит деплазмолиз, она возвращается в состояние тургора.

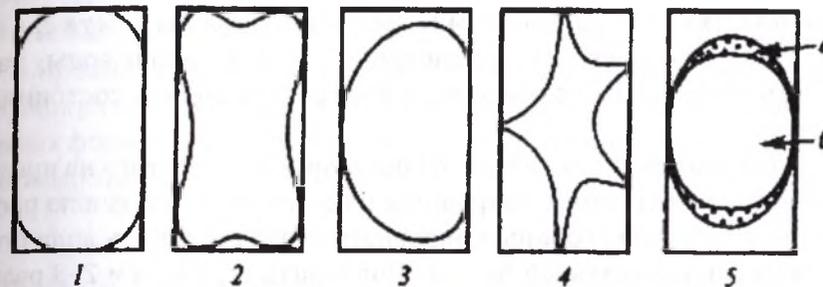


Рисунок 1.1 - Формы плазмолиза:

1 - угловатый, 2 - вогнутый, 3 - выпуклый,
4 - судорожный, 5 - колпачковый (а - цитоплазма, б - вакуоль)

Однако подобное явление может возникать и в том случае, если клетка находится в растворе плазмолитика длительное время, а его молекулы невелики (например, глицерин и мочевины) и проникают через пограничные мембраны цитоплазмы (плазмалемму и тонопласт), накапливаются в вакуоли, повышают концентрацию клеточного сока и вызывают обратный ток воды в клетку, то есть отмечается явление *самопроизвольного деплазмолиза*.

Цель: изучить явления плазмолиза и деплазмолиза в растительных клетках.

Объекты: веточки элодеи или мха мниума; листья традесканции, камнеломки, бегонии, содержащие антоциан; луковицы синего лука.

Реактивы и оборудование: 0,8М NaCl, глицерин, вода, препаративные иглы, пипетки, полоски фильтровальной бумаги, пинцеты, предметные и покровные стекла, световые микроскопы.

Ход работы

1. Наблюдение форм плазмолиза в растительных клетках

Кусочек ткани исследуемого объекта (срез нижнего эпидермиса листа камнеломки, традесканции или бегонии, лист элодеи или мха мниума, эпидермис выпуклой стороны чешуи синего лука) поместить на предметное стекло в каплю воды, накрыть покровным стеклом и рассмотреть исходное состояние клеток.

Затем заменить воду на 0,8М раствор NaCl. Для этого на предметное стекло рядом с покровным нанести большую каплю раствора, а с другой стороны покровного стекла оттянуть воду полоской фильтровальной бумаги. Повторить этот прием 2-3 раза до полной замены воды раствором.

Следить за изменением состояния клеток под микроскопом и зарисовать наблюдаемые формы плазмолиза (см. рисунок 1.1).

2. Наблюдение явления плазмолиза и деплазмолиза

Кусочки выпуклой стороны чешуи синего лука поместить на два предметных стекла в каплю воды, накрыть покровным стеклом и рассмотреть под микроскопом.

Затем воду на одном предметном стекле заменить 10 % раствором глицерина, на втором – 0,8М раствором NaCl (постоянно наблюдать под микроскопом за тем, что происходит в клетках).

После наступления выпуклого плазмолиза только на предметном стекле с 0,8М NaCl раствор снова заменить на воду. Вода поглощается клетками и внутреннее содержимое постепенно начинает заполнять весь объем клетки. Клетка возвращается в прежнее состояние. Это явление называется деплазмолизом, а состояние клетки – тургесцентным.

На предметном стекле с глицерином наблюдаем самопроизвольный деплазмолиз.

Результаты внести в таблицу 1.1 (сделать рисунки клеток, отметить время наступления полного плазмолиза и деплазмолиза).

Таблица 1.1 – Плазмолиз и деплазмолиз в растительных клетках

Раствор	Общий вид клетки (рисунок)	Время плазмолиза, минуты	Время деплазмолиза, минуты
0,8М раствор NaCl			
Глицерин			

Проанализировать и оформить полученные результаты в лабораторных тетрадях. Сформулировать выводы о наблюдаемых формах плазмолиза и объяснить условия наступления деплазмолиза.

Работа 2. Изучение вязкости и движения цитоплазмы в растительных клетках

Вязкость – это способность цитоплазмы оказывать сопротивление перемещению одних частиц (ионы, молекулы, органеллы) относительно других. Цитоплазма обладает так называемой структурной вязкостью, степень которой определяется мерой ее оводненности и спецификой строения белков микрофиламентов, определяющей количество точек скрепления между ними. Вязкость имеет большое приспособительное значение в жизни растений. Она легко изменяется под действием внешних факторов: температуры, водообеспеченности и т. д. Обезвоживание цитоплазмы естественным путем, например при созревании семян или под действием концентрированных кислот и щелочей, увеличивает ее вязкость. Ионы кальция и алюминия, образуя дополнительные точки скрепления между отдельными молекулами белков, повышают вязкость цитоплазмы. Ионы калия, напротив, увеличивают дисперсность коллоидов цитоплазмы, оводняют, разжижают ее.

Вязкость цитоплазмы зависит и от внутренних факторов: видовых особенностей растения, местообитания, возраста и фазы онтогенеза растения. Она может быть различна в разных органах. В целом вязкость цитоплазмы весьма лабильный показатель, тесно связанный с жизнедеятельностью растений.

Движение цитоплазмы свойственно практически всем живым активно функционирующим клеткам. У одних растений цитоплазма движется с высокой скоростью (клетки листьев водных растений, эпидермальные волоски тыквенных и глосиниевых), у других – движение ее едва заметно. Выделяют несколько типов движения цитоплазмы. Рассмотрим лишь два наиболее распространенных – ротационное (круговое) и циркуляционное (струйчатое).

Ротационное движение свойственно клеткам, имеющим крупную центральную вакуоль (например, у водных растений). Оно заключается в скольжении тонкого пристенного слоя цитоплазмы по периметру клетки. Вместе с током цитоплазмы перемещаются органеллы. *Циркуляционное движение* присуще цитоплазме клеток, имеющих несколько крупных вакуолей (например, в волосках тычиночных нитей традесканции). Оно сводится к перемещению цитоплазмы в различных направлениях по цитоплазматическим тягам, разделяющим вакуоли.

В организации движения цитоплазмы участвуют белки, образующие цитоскелет клетки – микротрубочки, толстые, тонкие и промежуточные микрофиламенты и микротрабекулы (рисунок 1.2). Цитоскелет – это очень лабильная, постоянно меняющаяся система, его элементы способны быстро распадаться (деполимеризоваться) и вновь собираться в структуры (полимеризоваться).

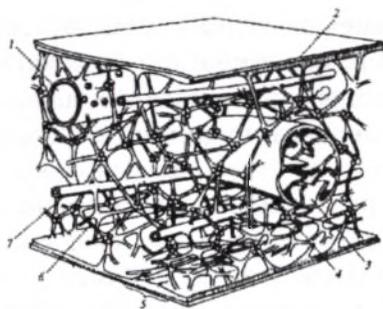


Рисунок 1.2 – Цитоскелет клетки:

1 – ЭПС, 2 – клеточная мембрана, 3 – митохондрия, 4 – полисома, 5 – микрофиламенты, 6 – трабекулярные нити, 7 – микротрубочка

Внутриклеточное движение или движение самой клетки зависит главным образом от скольжения одного структурного элемента относительно другого. Это скольжение происходит за счет взаимодействия белков. Два основных белка, ответственных за двигательную систему, существуют во всех клетках: немые мышечные формы актина и миозина.

Движение цитоплазмы активизирует превращение метаболитов и тем самым ускоряет обмен веществ и энергии в клетке. Движение цитоплазмы – активный процесс, сопровождающийся затратой энергии АТФ. Поэтому оно протекает при определенном температурном оптимуме и соответствующем значении рН среды (4,5–5,0). Непосредственным источником АТФ служат процессы дыхания и фотосинтеза.

Скорость движения цитоплазмы зависит также от внешних факторов. Температура, ионы, свет действуют на движение цитоплазмы косвенно, через изменение ее вязкости. При повышении температуры среды до верхней предельной для каждого вида границы вязкость цитоплазмы снижается, и движение ее ускоряется. Одновалентные ионы (K^+ , Na^+) оводняют и разжижают цитоплазму, ускоряя тем самым ее движение; двухвалентные (Ca^{2+} , Mg^{2+}), наоборот, замедляют и даже останавливают его. Наличие или отсутствие движения цитоплазмы, изменение его скорости могут указывать на функциональное состояние растительной клетки.

Цель: изучить свойства живой цитоплазмы – вязкость и движение, установить влияние различных факторов на изменение вязкости и скорости движения цитоплазмы в растительных клетках.

Объекты: веточки элодеи или мха мниума; листья традесканции, камнеломки, бегонии, содержащие антоциан; луковицы синего лука.

Реактивы и оборудование: 0,8М NaCl, 0,1М, 0,3М и 1М KNO_3 , 0,7М $Ca(NO_3)_2$, 1М сахара, 0,1М раствор глюкозы, растворы спирта – 2 и 15 капель 96 % спирта на 10 мл воды, препаративаль-

ные иглы, стеклянные палочки, пипетки, фильтровальная бумага, пинцеты, предметные и покровные стекла, световые микроскопы, лампы на 60 Вт, водяная баня или термостат, термометры.

Ход работы

1. Сравнение вязкости цитоплазмы в клетках растений различных местообитаний

Кусочки нижнего эпидермиса листа камнеломки и бегонии, лист мха мниума и элодеи канадской поместить на отдельные предметные стекла в каплю воды и рассмотреть исходное состояние клеток. Затем заменить воду на 0,8 М раствор NaCl (смотреть работу 1). Постоянно следить в микроскоп за тем, что происходит в клетках, отмечать наступление плазмолиза. Результаты оформить в таблицу 1.2 (указать время наступления выпуклого плазмолиза («+») или его отсутствие («-»)).

Таблица 1.2 - Влияние различных факторов на вязкость цитоплазмы растительных клеток

№	Вариант опыта		Время плазмолиза, минуты				
			3	6	10	15	20
1	Местообитания растений	Камнеломка					
		Мох мниум					
		Бегония					
		Элодея					
2	Температура	2 °С					
		20 °С					
		30 °С					
3	Действующие ионы	Сахароза (контроль)					
		K ⁺					
		Ca ²⁺					

2. Сравнение вязкости цитоплазмы в клетках эпидермиса выпуклой стороны луковичной чешуи при различных температурах

За 2-3 часа до начала работы часть луковичы синего лука поместить в холодильник при 2 °С (предварительно завернув ее

в увлажненную фильтровальную бумагу), другую часть луковичы поместить в термостат или водяную баню при 30 °С, а третью оставить при комнатной температуре.

На три предметных стекла в каплю воды поместить по кусочку эпидермиса выпуклой стороны чешуи синего лука, находившихся в различных температурных условиях, и рассмотреть исходное состояние клеток. После этого заменить воду на 0,8М раствор NaCl. Постоянно следить в микроскоп за тем, что происходит в клетках, отмечать время наступления выпуклого плазмолиза. Результаты занести в таблицу 1.2 (указать время выпуклого плазмолиза или его отсутствие).

3. Сравнение вязкости цитоплазмы в растительных клетках под действием различных ионов

Кусочки выпуклой стороны чешуи синего лука поместить на три предметных стекла в различные растворы:

- 1-е предметное стекло - 1М раствор сахарозы,
- 2-е предметное стекло - 0,7М Ca(NO₃)₂,
- 3-е предметное стекло - 1М KNO₃.

Каждые несколько минут отмечать форму плазмолиза. Раствор сахарозы, не содержащий ионов, используется в качестве контрольного. Результаты оформить в таблицу 1.2.

4. Изучение скорости движения цитоплазмы в клетках растений

У предварительно подготовленного растения элодеи канадской, выдержанного не менее двух часов на ярком свете, берут лист вблизи верхушечной почки побега. Помещают его на предметное стекло в каплю воды, накрывают покровным стеклом, рассматривают под микроскопом при увеличении x10.

Выбирают несколько клеток, в которых хорошо заметно движение хлоропластов (обычно это клетки, расположенные вдоль центральной жилки, так как здесь количество хлоропластов меньше, а отток ассимилятов наиболее интенсивный). Переводят объектив микроскопа на увеличение x40 и определяют время оборота одного хлоропласта вдоль клеточной стенки в трех клетках, имеющих приблизительно равный объем.

Полученные данные заносят в таблицу 1.3 и определяют среднюю скорость оборота хлоропласта (для каждого варианта опыта берут отдельные предметные стекла):

а) контроль для всех вариантов опыта: выдержанные в воде при обычном освещении листья элодеи канадской;

б) листья элодеи, которые освещались в течение 2 часов лампой 60 Вт;

в) листья элодеи, выдержанные 10 минут при температурах 10 °С, 37 °С, 45 °С и при комнатной температуре (20 °С);

г) листья элодеи, помещенные на 10 минут в растворы спирта различной концентрации (2 и 15 капель спирта на 10 мл воды);

д) листья элодеи, помещенные на 10 минут в 0,1М и 0,01М растворы глюкозы;

е) листья элодеи, находившиеся 10 минут в 0,1 и 0,3М растворах KNO_3 .

Таблица 1.3 - Влияние различных факторов на время движения хлоропластов в растительных клетках

№	Вариант опыта		Время оборота хлоропласта, секунды			
			1	2	3	среднее
1	Интенсивность освещения	Естественное освещение (контроль)				
		60 Вт				
2	Температура	20 °С (контроль)				
		10 °С				
		37 °С				
		45 °С				
3	Влияние различных концентраций спирта	Вода (контроль)				
		2 капли /10 мл воды				
		15 капель / 10 мл воды				
4	Влияние ионов калия	Вода (контроль)				
		0,1 М KNO_3				
		0,3 М KNO_3				

№	Вариант опыта		Время оборота хлоропласта, секунды			
			1	2	3	среднее
5	Влияние глюкозы	Вода (контроль)				
		0,1М раствор глюкозы				
		0,01М раствор глюкозы				

Проанализировать полученные результаты. Объяснить зависимость скорости движения цитоплазмы от времени движения хлоропластов, от ее вязкости. Сформулировать выводы о влиянии внешних и внутренних факторов на вязкость и скорость движения цитоплазмы.

Работа 3. Изучение проницаемости плазмалеммы и тонопласта

Биомембрана обладает избирательной проницаемостью. *Избирательная проницаемость* – способность мембраны пропускать различные вещества с неодинаковой скоростью. Избирательная проницаемость свойственна только живым мембранам. При высокой температуре, действии кислот, щелочей, растворителей липидов, вследствие коагуляции белковых компонентов мембран или вымывания их липидного матрикса она теряет это свойство и беспрепятственно пропускает вещества. Проницаемость мембраны увеличивается при повышении температуры и освещения, при водном дефиците, а также при старении клетки – в результате нарушения естественной структуры мембран.

Установлено, что краска нейтральный красный проникает в живую клетку и накапливается в ней в значительном количестве. Однако цитоплазма живой клетки имеет слабое сродство к красителю, что является одной из причин аккумуляции нейтрального красного в вакуолях живых клеток и связано с разностью рН между цитоплазмой и вакуолярным соком. Нейтраль-

ный красный накапливается в «кислом компартменте» клетки, так как сам является слабым основанием. Окрашивание цитоплазмы и ядра – признак повреждения клетки. В то же время живая цитоплазма непроницаема для индигокармина и кислого фуксина. На окрашивании этими красителями основано определение жизнеспособности тканей клубней, семян и их зародышей и т. д. Имеется разница в проницаемости пограничных мембран цитоплазмы – плазмалеммы и тонопласта – для одних и тех же веществ.

Ионы K^+ сравнительно хорошо проникают через плазмалемму и значительно хуже через тонопласт. Накапливаясь в цитоплазме, калий увеличивает ее оводненность, вследствие чего она набухает и приобретает вид колпачков, хорошо различимых на концах плазмолизированного протопласта – колпачковый плазмолиз (рисунок 1.3).

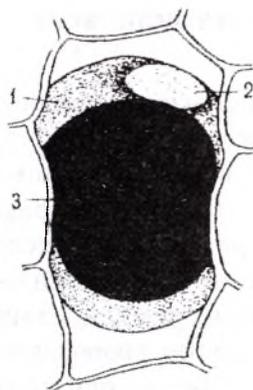


Рисунок 1.3 – Колпачковый плазмолиз:

1 – набухшая протоплазма, образовавшая колпачки; 2 – ядро; 3 – вакуоль с окрашенным клеточным соком

Колпачковый плазмолиз можно наблюдать при использовании гипертонического раствора калиевой соли, чаще всего нитрата калия. Цитоплазма, обычно покрывающая тонким слоем вакуоль, при набухании становится хорошо видимой. Это позво-

ляет определить локализацию красителя в клетке. Если краситель накапливается в вакуоли, то колпачки цитоплазмы сероватого цвета. В случае накопления красителя в цитоплазме она окрашивается более интенсивно, чем вакуоль. Появление «колпачков» обусловлено разжижающим действием ионов калия, которые относительно быстро проходят через плазмалемму в протопласт, накапливаясь в мезоплазме, и гораздо медленнее проникают из протопласта в вакуоль.

Обнаружение проницаемости пограничных слоев цитоплазмы по отношению к тем или иным веществам основано на выдерживании ткани в соответствующих растворах в течение определенного времени с последующим микроскопированием для выявления локализации этих веществ в клетке. Изучение проницаемости тонопласта и плазмалеммы для разных соединений требует специальных методических приемов. Поэтому они рассматриваются конкретно для каждого вещества.

Цель: изучить проницаемость плазмалеммы и тонопласта для различных веществ.

Объекты: луковицы бесцветного и синего лука.

Реактивы и оборудование: 1М растворы сахарозы и KNO_3 , 0,5 % индигокармин, 0,01 % нейтральный красный, 1М растворы KNO_3 и сахарозы, 0,5 % эозин, 10 % глицерин, 0,8М раствор $NaCl$, пинцеты, препаровальные иглы, предметные и покровные стекла, кусочки фильтровальной бумаги, стаканчики с водой, пипетки глазные, микроскопы.

Ход работы

1. Определение проницаемости пограничных мембран цитоплазмы для нейтрального красного

Кусочки бесцветного эпидермиса вогнутой стороны луковичной чешуи поместить на два предметных стекла в каплю воды. Убить клетки на одном из стекол, проведя его несколько раз над пламенем спиртовки.

Фильтровальной бумагой убрать воду с обоих стекол и нанести на них по капле 0,02 % раствора нейтрального красного. Через 10 минут убрать краситель, отмыть ткань водой с помощью пипетки, убрать остатки воды фильтровальной бумагой, капнуть на стекло 1М раствор KNO_3 . Через 20–30 минут посмотреть клетки под микроскопом. Отметить, одинаковая ли окраска ткани на стеклах, наблюдается ли плазмолиз, какая часть клетки (вакуоль, цитоплазма) окрасилась красителем (следует иметь в виду, что среди клеток эпидермиса лука, не подвергавшихся нагреванию, также могут быть нежизнеспособные клетки).

Результаты занести в таблицу 1.4 (используя цветные карандаши, изобразить клетки и раскрасить содержимое в нужный цвет; при наличии изобразить форму плазмолиза в клетках).

Таблица 1.4 – Проницаемость плазмалеммы и тонопласта для нейтрального красного и индигокармина

Краситель	Общий вид клетки (рисунок)	
	без нагревания	с нагреванием
Нейтральный красный		
Индигокармин		

2. Определение проницаемости пограничных мембран цитоплазмы для индигокармина

Обработать ткань бесцветного эпидермиса вогнутой стороны луковичной чешуи, как указано в пункте первом.

Затем нанести на два предметных стекла по капле 0,05 % раствора индигокармина. Через 20 минут убрать краситель кусочком фильтровальной бумаги и отмыть ткань водой. Фильтровальной бумагой убрать воду и нанести на стекла по капле 1М раствора KNO_3 . Через 20–30 минут посмотреть клетки под микроскопом. Сравнить окраску убитой и живой ткани. Отметить, какая часть клетки (цитоплазма, вакуоль) окрасилась красителем, наблюдается ли плазмолиз.

Результаты записать в таблицу 1.4 (используя цветные карандаши, изобразить клетки и раскрасить содержимое клеток в нужный цвет; при наличии изобразить форму плазмолиза в клетках).

3. Определение проницаемости пограничных мембран цитоплазмы для ионов калия

Кусочки эпидермиса выпуклой стороны мясистой чешуи синего лука поместить на два предметных стекла – в 1М раствор сахарозы и в 1М раствор KNO_3 . Через 30–40 минут посмотреть клетки под микроскопом. В варианте с сахарозой вакуоль окружена тонким слоем цитоплазмы, тогда как в KNO_3 слой цитоплазмы, особенно со стороны поперечных стенок, приобретет значительную толщину в виде «колпачков».

Результаты занести в таблицу 1.5 (зарисовать клетки, отметив форму наблюдаемого плазмолиза).

Таблица 1.5 – Проницаемость плазмалеммы и тонопласта для KNO_3 и эозина

Действующее вещество	1М сахароза	1М KNO_3	1М сахароза + эозин	1М KNO_3 + эозин
Общий вид клетки (рисунок)				

4. Определение проницаемости пограничных мембран цитоплазмы для эозина

Кусочки эпидермиса вогнутой стороны чешуи бесцветного лука поместить на два предметных стекла в 1М растворы сахарозы с эозином и KNO_3 с эозином. Через 30 минут просмотреть клетки под микроскопом.

Результаты записать в таблицу 1.5 (отметить появление колпачкового плазмолиза, сделать рисунок клетки, окрасить вакуоль и цитоплазму).

Общие результаты работы занести в таблицу 1.6. Отметить наличие проницаемости пограничных мембран цитоплазмы для рассмотренных веществ знаком «+», а отсутствие – знаком «-».

Таблица 1.6 – Проницаемость плазмалеммы и тонопласта для различных веществ

Действующее вещество	Нейтральный красный	Индигокармин	Эозин	K ⁺
Плазмалемма				
Тонопласт				

Сформулировать выводы о характере проницаемости пограничных слоев цитоплазмы для различных веществ.

Работа 4. Проницаемость живого и мертвого протопласта для клеточного сока

Проницаемость протопласта связана с его структурной разноразмерностью. В протопласте живой клетки имеются три ограниченных слоя: наружный, прилегающий к целлюлозной оболочке клетки, – плазмалемма, средний – мезоплазма и внутренний, представляющий собой мембрану вакуоли, – тонопласт. Плазмалемма и тонопласт имеют мембранное строение и обладают свойством полупроницаемости. Проницаемость протопласта непостоянна, она зависит от внешних факторов и физиологического состояния самой клетки. Таким образом, живой протопласт способен регулировать транспорт веществ и удерживать некоторые вещества в клеточном соке внутри вакуоли. При повреждении протопласт утрачивает свойство избирательной проницаемости, поэтому вещества, содержащиеся в клеточном соке, свободно выходят из клетки. Коагуляцию, свертывание протопласта вызывают такие факторы, как высокие и низкие температуры, наркотические вещества, химические соединения, яды.

Цель: изучить влияние внешних факторов на проницаемость протопласта.

Объекты: замороженный и свежий корнеплод столовой свеклы.

Реактивы и оборудование: дистиллированная вода, 50 % спирт, 30 % раствор уксусной кислоты, пробочное сверло, ступки, штатив, пробирки, мерные цилиндры, спиртовка или водяная баня, спички, держатель для пробирок, нож или скальпель.

Ход работы

Из свежего корнеплода свеклы нарезать пластинку толщиной 0,5–0,8 мм, затем пробочным сверлом сделать высечки (всего необходимо 12 высечек). Аналогично сделать три высечки из замороженного корнеплода свеклы. Тщательно промыть полученные высечки водой (не путая замороженный и свежий корнеплоды), пока вода не станет бесцветной.

Три высечки из свежего корнеплода свеклы положить в пробирку с водой (4–5 мл) и кипятить на водяной бане (или спиртовке) в течение 2 минут.

Приготовить пять пробирок и заполнить их по следующей схеме:

- 1-я пробирка: 4 мл дистиллированной воды и 3 высечки из свежего корнеплода свеклы;
- 2-я пробирка: 4 мл дистиллированной воды и 3 высечки из свежего прокипяченного корнеплода свеклы;
- 3-я пробирка: 4 мл дистиллированной воды и 3 высечки из замороженного корнеплода свеклы;
- 4-я пробирка: 4 мл 50 % спирта и 3 высечки из свежего корнеплода свеклы;
- 5-я пробирка: 4 мл 30 % раствора уксусной кислоты и 3 высечки из свежего корнеплода свеклы.

Пробирки незамедлительно встряхнуть и отметить окрашивание раствора в соответствии с обозначениями сразу и через 15–20 минут: «–» – жидкость бесцветная, «+» – жидкость слабо окрашена, «++» – жидкость достаточно окрашена, «+++» – жидкость сильно окрашена.

Результаты работы занести в таблицу 1.7.

Таблица 1.7 – Проницаемость протопласта для клеточного сока

№ пробирки	Вариант опыта	Окраска жидкости	
		начальная	через 15-20 минут
1	Вода + свежий корнеплод		
2	Вода + свежий прокипяченный корнеплод		
3	Вода + замороженный корнеплод		
4	50 % спирт + свежий корнеплод		
5	30 % уксусная кислота + свежий корнеплод		

Проанализировать полученные результаты. Сформулировать вывод о проницаемости протопласта для клеточного сока в зависимости от степени повреждения растительной ткани различными агентами.

Работа 5. Влияние температуры на проницаемость клеточных мембран для бетацианина

Пигмент столовой свеклы *бетацианин* – относительно большая, хорошо растворимая в воде молекула, находящаяся в клеточном соке. Чтобы попасть во внешнюю среду, молекула бетацианина должна пройти через тонопласт, основной цитоплазматический матрикс и плазмалемму. Диффузия бетацианина из вакуоли в среду может проходить достаточно быстро при действии различных факторов или агентов, вызывающих изменение проницаемости мембраны. Измеряя оптическую плотность инкубационной среды через определенный промежуток времени, можно оценить степень воздействия данного фактора на проницаемость мембран. Этот простой и быстрый метод, использу-

ющийся обычно в прикладных исследованиях при изучении действия какого-либо вещества или фактора на биологические объекты.

Цель: определить влияние температуры на проницаемость мембран для бетацианина по степени выделения его в различные инкубационные среды.

Объекты: корнеплод столовой свеклы.

Реактивы и оборудование: 0,5М раствор сахарозы, сверло диаметром 5 мм, лезвие или скальпель, линейки, ступки, пробирки, пипетки, термостаты с температурой 35 °С и 45 °С, спектрофотометр.

Ход работы

Из свежего корнеплода свеклы нарезают пластинку толщиной 0,5–0,8 мм, затем с помощью сверла вырезают высечки диаметром 5 мм, лезвием или скальпелем разрезают их на миллиметровые кусочки по толщине, отбирая одинаковые по цвету.

Отсчитывают 18 высечек, которые для удаления остатков клеточного сока в течение 15–20 минут промывают водопроводной водой в ступке.

Берут шесть чистых пробирок. В три пробирки наливают по 10 мл воды, в три другие – по 10 мл сахарозы. В каждую пробирку помещают по 3 высечки корнеплода свеклы.

Берут по две пробирки (одна с водой и одна с сахарозой), оставляют их при комнатной температуре, две другие такие же пробирки помещают на водяную баню с температурой 35 °С, две оставшиеся пробирки также помещают на водяную баню при 45 °С и фиксируют время.

В течение 1 часа через каждые 15 минут в пробирках измеряют выход бетацианина в раствор (проводят три-четыре измерения). Для этого из каждой опытной пробирки пипеткой отливают раствор в чистую пробирку и после измерения оптической плотности раствора на спектрофотометре выливают раствор

в ту же опытную пробирку, стараясь не терять жидкость. Измерение оптической плотности проводят на спектрофотометре при длине волны $\lambda = 535$ нм.

Полученные результаты заносят в таблицу 1.8.

По данным необходимо построить график зависимости оптической плотности раствора от времени нахождения высечек при определенных температурных условиях.

Таблица 1.8 – Влияние температуры и сахарозы на проницаемость пограничных слоев цитоплазмы для бетацианина

Время	Оптическая плотность					
	вода (контроль)			сахароза, 0,5М		
	22 °С	35 °С	45 °С	22 °С	35 °С	45 °С
15 минут						
30 минут						
45 минут						

Сформулировать вывод о влиянии температуры и концентрации раствора сахарозы на изменение проницаемости мембран для бетацианина.

Работа 6. Определение жизнеспособности семян по окрашиванию цитоплазмы

Метод определения жизнеспособности семян основан на свойстве живой протоплазмы не пропускать красящие вещества в клетку. У мертвой и поврежденной ткани изменяется структура протоплазмы и увеличивается ее сродство с красителями. Жизнеспособность семян гороха, фасоли, льна, тыквы, люпина определяется методом Нелюбова, семян пшеницы – методом Иванова.

Цель: определить жизнеспособность семян однодольных и двудольных растений.

Объекты исследования: семена гороха, фасоли и тыквы, пшеницы.

Реактивы и оборудование: дистиллированная вода, термостат, бюксы, термометры, лезвия, чашки Петри или ступки, стеклянные стаканчики, пробирки, фильтровальная бумага, водяная баня, держатели для пробирок, 0,2 % раствор индигокармина, 0,2 % раствор кислого фуксина или 0,1 % раствор индигокармина.

Ход работы

1. Метод Нелюбова (для двудольных культур)

Необходимо взять две партии семян гороха (фасоли или тыквы), каждая по 10 штук. Первую партию из 10 семян, предварительно убивают кипячением (кипятить в пробирках с водой 2–3 минуты на водяной бане).

Затем обе партии семян предварительно замачивают в воде в течение 10–18 часов при 20 °С. После этого снимают семенную кожуру и помещают семена в 0,2 % раствор индигокармина на 2–3 часа при 30 °С. Краску сливают, промывают семена водой и устанавливают их жизнеспособность.

Семена с неокрашенными корешками и слабо окрашенными семядолями относят к жизнеспособным. Семена с полностью окрашенными корешками и семядолями признают нежизнеспособными.

2. Метод Иванова (для однодольных культур)

Берут две партии семян пшеницы, каждая по 10 штук. Первую партию, предварительно убивают кипячением (кипятить в пробирках с водой 2–3 минуты на водяной бане). Затем обе партии семян предварительно замачивают в воде в течение 10 часов при комнатной температуре.

После замачивания семена разрезают бритвой вдоль бороздки пополам и помещают на 15 минут в стаканчик или бюкс с 0,2 % раствором кислого фуксина или 0,1 % раствором индигокармина. Краску сливают, промывают семена водой, размещают пинце-

том в чашке Петри или на фильтровальной бумаге и определяют их жизнеспособность.

У жизнеспособных семян зародыши не окрашены, у мертвых или сильно поврежденных окрашены более или менее интенсивно.

3. Определение жизнеспособных и нежизнеспособных семян

Формула для вычисления жизнеспособности семян:

$$\text{ЖСС} = (a - 100/v) \cdot 100, \text{ где}$$

ЖСС – жизнеспособность семян, %; а – число семян, у которых зародыш (у злаков), корешок и семядоли (двудольные) не окрашены; в – общее число семян, взятых для анализа.

Результаты опыта занести в таблицу 1.9.

Таблица 1.9 – Жизнеспособность семян однодольных и двудольных растений

Объект исследования	Количество семян, взятых для анализа	Количество семян, у которых окрашены зародыш или корешок и семядоли	ЖСС, %

Сформулировать выводы о годности семян для посева, если известно, что жизнеспособность семян должна быть не ниже, чем 95–98 % для тыквенных, 90–95 % для бобовых и зерновых.

Работа 7. Определение потенциального осмотического давления клеточного сока методом плазмолиза

Клеточный сок – водный раствор различных органических и неорганических веществ. Потенциальное осмотическое давление зависит от числа частиц, находящихся в этом растворе, то есть от концентрации и степени диссоциации растворенных молекул. *Потенциальное осмотическое давление* выражает максимальную способность клетки всасывать воду. Величина этого по-

казателя указывает на возможность растения произрастать на почвах различной водоудерживающей силы. Повышение осмотического давления при засухе служит критерием обезвоживания растений и необходимости полива.

Данный метод основан на подборе такой концентрации наружного раствора, которая вызывает самый начальный (уголковый) плазмолиз в клетках исследуемой ткани. В этом случае осмотическое давление раствора примерно равно осмотическому давлению клеточного сока. Такой наружный раствор называют *изотоническим*.

Цель: определить осмотическое давление клеточного сока клеток растительной ткани плазмолитическим методом.

Объекты: луковица синего лука с чешуями.

Реактивы и оборудование: 1М раствор сахарозы или KNO_3 , безопасные бритвы, микроскопы, предметные и покровные стекла, бюксы, градуированные пипетки на 10 мл, препаровальные иглы, часы, фильтровальная бумага, термометр.

Ход работы

1. Подготовка растворов сахарозы для эксперимента

В бюксах готовят по 10 мл растворов следующих концентраций: 0,1М; 0,2М; 0,3М; 0,4М; 0,5М; 0,6М; 0,7М. Для этого необходимо взять 1М сахарозу (или KNO_3) и с помощью разбавления дистиллированной водой получить нужную концентрацию, используя таблицу 1.10. Растворы тщательно перемешивают, бюксы закрывают крышками, чтобы предотвратить испарение, и ставят на лабораторном столе в ряд по убывающей концентрации.

Таблица 1.10 – Приготовление растворов сахарозы или KNO_3

Концентрация раствора, моль/л	На 10 мл раствора	
	1М раствора сахарозы или KNO_3 , мл	воды, мл
0,7	7	3
0,6	6	4

Концентрация раствора, моль/л	На 10 мл раствора	
	1М раствора сахарозы или KNO ₃ , мл	воды, мл
0,5	5	5
0,4	4	6
0,3	3	7
0,2	2	8

2. Подготовка срезов растительной ткани

Лезвием безопасной бритвы делают тонкие срезы с выпуклой поверхности пигментированной чешуи лукавицы размером примерно 25 мм² из среднего хорошо окрашенного участка.

3. Проведение эксперимента

В каждый бюкс, начиная с высокой концентрации, с интервалом 3 минуты опускают по 2-3 среза. Через 30 минут после погружения срезов в первый бюкс их исследуют под микроскопом. Затем через каждые 3 минуты наблюдают срезы из последующих бюксов. Таким способом достигается равная продолжительность пребывания срезов в растворах плазмолитиков.

Срезы рассматривают под микроскопом в капле раствора из того бюкса, откуда они были взяты. Определяют стадию плазмолиза клеток (см. рисунок 1.1) и находят изотоническую концентрацию как среднюю арифметическую между концентрацией, при которой плазмолиз только начинался, и концентрацией, которая уже не вызывает плазмолиза.

Результаты опыта записывают в таблицу 1.11.

Таблица 1.11 - Осмотическое давление в клетках эпидермиса синего лука

Концентрация раствора, моль/л	Наступление выпуклого плазмолиза	Изотоническая концентрация, моль/л
0,7		
0,6		
0,5		
0,4		
0,3		
0,2		
0,1		

4. Определение осмотического давления в клетках синего лука при комнатной температуре (20 °С)

В зависимости от вязкости цитоплазмы в клетках чешуи репчатого лука осмотическое давление варьирует, как правило, от 300 до 1300 кПа.

Потенциальное осмотическое давление определяется по формуле:

$$\pi = R \cdot c \cdot T \cdot i$$

R - универсальная газовая постоянная, равная 8,314 Дж/моль·К; T - абсолютная температура в Кельвинах; c - изотоническая концентрация раствора, М; i - изотонический коэффициент Вант - Гоффа.

Коэффициент Вант - Гоффа характеризует ионизацию растворов:

$$I = 1 + \alpha \cdot (n - 1), \text{ где}$$

α - степень диссоциации раствора данной концентрации; n - число ионов, на которое диссоциирует соль.

Так как неэлектролиты не диссоциируют, для сахарозы $i = 1$. Степень диссоциации KNO₃ разной концентрации составляет:

Концентрация	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Коэффициент Вант - Гоффа	0,71	0,74	0,76	0,79	0,83

Проанализировать полученные результаты. Сформулировать вывод о величине осмотического давления в клетках эпидермиса синего лука.

Работа 8. Определение сосущей силы (водного потенциала) тканей растений по изменению их размеров (метод Уршпрунга)

Сила, с которой клетка в данный момент поглощает воду, называется *сосущей*. Сосущая сила клетки (S) зависит от ее физиологического состояния и от внешних условий. В покоящихся се-

менах и меристематических клетках она обусловлена главным образом давлением набухания коллоидов протоплазмы и пектиновых веществ клеточных оболочек. В клетках, закончивших рост и имеющих большую центральную вакуоль, сосущая сила в значительной степени определяется величиной осмотического давления клеточного сока π и тургорного давления P , которое в свою очередь зависит от эластичности клеточной оболочки и содержания воды в клетке.

Осмотическое давление окружающего раствора (π) равно:
 $\pi = i \cdot C \cdot R \cdot T$

Сосущая сила клетки обычно равна разности осмотического давления клеточного сока и тургорного давления: $S_{кл} = \pi_{кл.сока} - P$.

В зависимости от насыщения клетки водой величина тургорного давления будет меняться, соответственно изменится и сосущая сила клетки.

Водообмен между клеткой и окружающей средой определяется соотношением сосущей силы клетки и осмотическим давлением наружного раствора. Поглощение или отдача воды клетками сопровождается изменением как их размеров и веса, так и концентрации окружающего раствора. При погружении кусочка ткани растения в раствор с большим осмотическим давлением вода из клеток поступает в раствор и размеры кусочка уменьшаются ($P = 0$, следовательно, $S = \pi$). Если сосущая сила клеток выше, чем π окружающего раствора, клетки всасывают воду и кусочек ткани увеличивается. При равенстве сосущей силы ткани и π окружающего раствора между выходом и поступлением воды в клетку устанавливается равновесие, и размеры кусочка ткани не изменяются.

Задача настоящей работы сводится к тому, чтобы из серии растворов найти такой, осмотическое давление которого равнялось бы сосущей силе клеток ткани. Зная, что $S_{кл} = \pi_{р-ра}$, находим $\pi_{р-ра}$. Осмотическое давление раствора ($\pi_{р-ра}$) легко рассчитать, зная его молярную концентрацию.

Однако в настоящее время для характеристики энергетического уровня молекул воды (их способности диффундировать или ис-

паряться) используется термодинамический показатель – водный потенциал, который для чистой воды принят за нуль ($\Psi_{H_2O} = 0$), а для любого раствора – меньше нуля. При замене осмотических показателей ($S_{кл} = \pi_{кл.сока} - P$) термодинамическим уравнение примет следующий вид:

$$-\Psi_{H_2O_{кл}} = -\Psi_{\pi} + \Psi_P, \text{ где}$$

$\Psi_{H_2O_{кл}}$ – водный потенциал клетки; Ψ_{π} – осмотический потенциал клеточного сока; Ψ_P – гидростатический потенциал.

Из уравнения видно, что осмотический потенциал понижает водный потенциал клетки, а потенциал давления повышает его. Как правило, Ψ_{H_2O} клетки отрицателен, и лишь при полном насыщении клетки водой, когда $\Psi_P = \Psi_{\pi}$, этот показатель равен нулю.

При погружении растительной клетки в какой-либо раствор водообмен между ними определяется соотношением их водных потенциалов: вода перемещается в сторону более низкого водного потенциала, то есть в сторону большей сосущей силы.

Цель: определить сосущую силу, тургорное и осмотическое давление клеток растительных тканей.

Объекты: свежие и подвявшие клубни картофеля, корнеплоды сахарной или столовой свеклы.

Реактивы и оборудование: растворы сахарозы от 0,1 до 0,9М, вода, мерные пробирки, стеклянные стаканчики алюминиевые бюксы, разделочная доска, ножи, лезвия, пинцеты, линейки.

Ход работы

1. Проведение эксперимента

Приготовить растворы сахарозы следующих концентраций: 0,1М; 0,2М; 0,3М; 0,5М; 0,7М; 0,9М, – как указано в таблице 1.10.

Поставить бюксы с растворами сахарозы указанной молярности на лабораторный стол. Вырезать из клубня или корнеплода (поперек продольной оси органа) пластинку толщиной 3–4 мм в форме прямоугольника размером 30x40 мм.

С помощью лезвия и линейки разрезать подготовленную пластинку на ряд одинаковых полосок величиной 3x40 мм (нарезать полоски следует быстро, не допуская подвядания). Излишки клеточного сока, вытекающие при разрезании ткани, удалить фильтровальной бумагой.

Погрузить по 3 полоски ткани в растворы сахарозы (погружение должно быть полным). Через 30 минут извлечь полоски из растворов и измерить.

Данные повторностей опыта и средние значения записывают в таблицу 1.12.

Таблица 1.12 – Изменение длины полосок ткани клубня картофеля

Концентрация сахарозы, М		0,9	0,7	0,5	0,3	0,2	0,1
Длина полосок, мм	исходная (l_0)						
	через 30 минут повторность (l_1)	1					
		2					
		3					
		среднее					
разность до и после погружения в раствор (Δl), мм							
$\Delta l, \%$							

Используя формулу, рассчитать Δl , определить изменения длины полосок в каждом растворе (данные также заносятся в таблицу 1.12):

$$\Delta l\% = \frac{l_0 - l_1}{l_0}$$

На основе полученных результатов построить график зависимости изменения длины полосок от концентрации наружного раствора (на оси абсцисс откладывают концентрации растворов (C), на оси ординат – $\Delta l, \%$).

2. Определение величины сосущей силы

Для определения величины сосущей силы клеток растительной ткани исходят из того, что в изотоническом растворе величина сосущей силы клеток равна осмотическому давлению на-

ружного раствора, которое определяется по уравнению Вант-Гоффа: $\pi = i \cdot C \cdot R \cdot T$.

Определить раствор, сосущая сила которого равна сосущей силе данной ткани. Для этого необходимо рассчитать сосущую силу ткани по сосущей силе раствора. Поскольку полоски находились в растворах достаточно продолжительное время и размеры их перестали меняться, то можно считать, что сосущая сила их уравнилась с осмотическим давлением окружающего раствора, то есть $S_{тк} = \pi_{р-ра}$, поэтому ее легко вычислить по формуле: $S_{тк} = i \cdot C \cdot R \cdot T$.

Полученные результаты заносят в таблицу 1.13.

Таблица 1.13 – Величина сосущей силы, осмотического и тургорного давления растительной ткани

Концентрация сахарозы, М	L (длина полосок ткани через 30 минут), мм	S (сосущая сила клеток), Па $S = c \cdot R \cdot T$	π (осмотическое давление клеточного сока), Па	$P = \pi - S$ (тургорное давление), Па

3. Определение значения π клеточного сока

В растворах меньшей концентрации полоски ткани будут иметь более низкие значения π , которые уменьшаются обратно пропорционально длине полосок ткани. Принимаем, что для самой короткой полоски $P = 0$ (характерно полное отсутствие тургора), тогда, исходя из формулы $S = \pi - P$, $\pi_1 = S_1$. Для остальных полосок: $\pi_1 \cdot L_1 = \pi_n \cdot L_n$, откуда $\pi_n = \pi_1 \cdot L_1 / L_n$.

Полученные результаты заносят в таблицу 1.13.

4. Определение тургорного давления

Имея все значения S и π , можно рассчитать значения P для исследованных полосок ткани по формуле: $P = \pi - S$. Результаты заносят в таблицу 1.13.

5. Построение графика, отражающего зависимость между осмотическим давлением, сосущей силой и тургорным давлением ткани

Используя образец рисунка 1.4, на оси абсцисс (в масштабе 1 см : 1 мм) откладывают значения длины полосок ткани в порядке

возрастания; на оси ординат – значения π , а затем P для соответствующих полосок. Откладывать значения S нет необходимости, так как на графике они представляют собой отрезки $\pi_n - P_n$. Соединив точки π и P линиями, получаем график зависимости π , S и P .

Проанализировать полученные результаты. Сформулировать выводы:

а) объяснить причину изменения длины полосок в растворах разных концентраций;

б) на основании графика определить концентрации растворов, где клетки находятся в состоянии полного тургора, частичного тургора и его отсутствия (то есть необходимо отметить гипертоническую, гипотоническую и изотоническую концентрацию наружного раствора по отношению к концентрации клеточного сока растительной ткани);

в) определить взаимозависимость трех величин (сосущей силы, осмотического и тургорного давления) и объяснить, от какого показателя, π или P , зависит в большей степени изменение сосущей силы отрезков ткани.

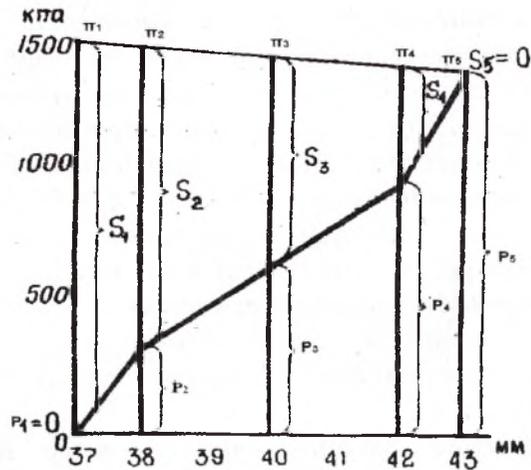


Рисунок 1.4 – График зависимости между сосущей силой, осмотическим и тургорным давлением растительных клеток, насыщеных водой

Работа 9. Определение водного потенциала растительных тканей по изменению концентрации внешнего раствора методом «струек» (по Шардакову)

Метод Шардакова основан на определении изменения концентрации раствора после выдерживания в нем исследуемых растительных тканей. Этот метод отличается высокой чувствительностью и точностью. Он прост, удобен и широко используется для определения сосущей силы листьев поливных растений при установлении сроков полива, основан на сравнении плотностей исходного (контрольного) раствора с этим же раствором после выдерживания в нем ткани. У раствора, не изменившего плотности, $-\psi_{H_2O} = -\psi_{TK}$. В этом случае величина водного потенциала раствора равна водному потенциалу клеток ткани.

Сущность метода в следующем. Если погрузить ткань в раствор, водный потенциал (ψ_{H_2O}) которого ниже водного потенциала ткани (ψ_{TK}), вода из ткани начинает поступать в раствор и его водный потенциал возрастает. Если же водный потенциал ткани (ψ_{TK}) выше водного потенциала (ψ_{H_2O}) раствора, то вода из раствора будет поступать в клетки и концентрация раствора увеличится. Если водные потенциалы ткани и окружающего раствора равны, устанавливается равновесие в поступлении и выходе воды из клеток в раствор и обратно, концентрация окружающего раствора не меняется.

Изменение концентрации раствора определяется по изменению его удельного веса. Для этого из растворов различных концентраций, в которых 20–30 минут была погружена растительная ткань, извлекают кусочки и подкрашивают эти растворы метиленовым синим (на кончике препаровальной иглы). Затем следят за направлением капли подкрашенного раствора в исходном растворе одной концентрации. Если струйка пойдет вниз, значит, удельный вес, а следовательно, концентрация раствора после погружения в него ткани увеличилась, вверх – уменьшилась. Если же капля остается на месте – концентрация не изменилась. В этом случае водный потенциал ткани и рас-

твора равны. Зная его концентрацию, можно рассчитать водный потенциал ткани.

У растений, испытывающих недостаток влаги, водный потенциал может достигать 1500 кПа, у хорошо оводненных – 300–600 кПа.

Цель: определить водный потенциал (сосущую силу) кусочков растительной ткани, имеющих различную степень оводненности.

Объекты: корнеплоды свеклы, клубни картофеля, листья пеларгонии или бегонии.

Реактивы и оборудование: 1М раствор NaCl, из которого готовят 0,9, 0,7, 0,5, 0,2 и 0,1 М растворы, дистиллированная вода, метиленовая синь в порошке, комплект пробирок, пипетки с оттянутым концом, препаровальные иглы, пробочные сверла диаметром 0,8–1 см, большие резиновые или корковые пробки (или куски картона), маркер, термометр комнатный, тонкая стеклянная палочка.

Ход работы

1. Определение водного потенциала свежих и подвявших клубней картофеля (или свежих и подвявших корнеплодов столовой свеклы); тургесцентных и подвявших листьев пеларгонии (или бегонии)

Поставить в штатив два ряда чистых сухих пробирок по 7 штук.

В пробирки 1-го ряда налить по 10 мл растворов NaCl разной молярности в порядке ее возрастания (разведение см. таблицу 1.10). Затем из каждой пробирки отлить по 1 мл раствора в рядом стоящую пробирку 2-го ряда. Обозначить маркером концентрацию растворов в пробирках. Далее с помощью пробочного сверла диаметром 1 см вырезать высечки из листьев, не захватывая крупных жилок. При использовании мясистой ткани клубней и корнеплодов их нарезают поперек продольной оси на тонкие

пластинки (около 2 мм толщиной) и из них высекают сверлом диски. Желательно подложить под растительную ткань пробку или кусок толстого картона.

После этого в пробирки 2-го ряда («маленькие») опускают по 2 диска растительной ткани на 20–30 минут и закрывают пробками, следя, чтобы диски были погружены в растворы. Затем приступают к определению удельного веса растворов. Для этого в каждую пробирку второго ряда, удалив растительные ткани, добавляют по одному кристаллику метиленовой сини и встряхивают пробирку.

Плотность каждого из подкрашенных растворов сравнивают с плотностью исходных растворов следующим образом: пипеткой с тонким оттянутым концом отбирают 0,1 мл подкрашенного опытного раствора и переносят в пробирку 1-го ряда с соответствующим исходным раствором (примерно до его середины). Медленно выпуская струйку раствора, следят за направлением ее движения. Прежде чем набирать жидкость из следующей пробирки, пипетку следует вытереть фильтровальной бумагой.

Результаты занести в таблицу 1.14, указав стрелкой (↑, ↓) направление движения окрашенной струйки. Выявить раствор, в котором $-\psi_{H_2O} = -\psi_{тк}$.

Общие результаты записать в таблицу 1.15.

Таблица 1.14 – Направление движения «струек» раствора

Концентрация, М	1,0	0,9	0,7	0,5	0,3	0,2	0,1
Движение капли							

Таблица 1.15 – Величина водного потенциала в клетках листьев

Объект исследования	Вариант опыта	Водный потенциал, кПа

Проанализировать полученные результаты. Сделать вывод о зависимости водного потенциала растительных тканей от степени их оводненности.

ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ПО ТЕМЕ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ»

1. Отличительные особенности растительной клетки от животной клетки.
2. Строение и функции органоидов растительной клетки.
3. Особенности строения и функции мембран растительной клетки.
4. Клеточная стенка: химический состав, структурная организация, физические свойства, функции. Образование и рост клеточной стенки.
5. Особенности структуры и функции цитоплазмы, свойства цитоплазмы растительных клеток.
6. Осмотические свойства клетки. Понятие об осмосе, осмотическом давлении, тургоре и сосущей силе. Методы определения сосущей силы клеток.
7. Один кусочек эпидермиса синего лука выдержан в гипертоническом растворе KNO_3 , другой – в $Ca(NO_3)_2$. В каком из них быстрее наступит выпуклый плазмолиз, почему?
8. Почему у растений жарких сухих мест обитания вязкость цитоплазмы, как правило, выше, чем у мезофитов?
9. Кусочки одной и той же растительной ткани погружены в 1М растворы сахарозы и $NaCl$. В каком из них будет более сильный плазмолиз? Пояснить расчетом.
10. Почему при изучении влияния K^+ и Ca^{2+} на вязкость цитоплазмы используют 1М раствор KNO_3 и 0,7М раствор $Ca(NO_3)_2$? Почему взяты разные концентрации данных плазмолитиков?
11. Опытным путем установлено, что осмотическое давление клеточного сока в клетках клубня картофеля при 17 °С равно 15 кПа. Какую молярную концентрацию раствора сахарозы необходимо взять, чтобы вызвать в них плазмолиз цитоплазмы?
12. Два кусочка эпидермиса синего лука соответственно с живыми и убитыми нагреванием клетками поместили в гипертонический раствор сахарозы. Какая картина будет наблюдаться? Почему?

13. Клетки листа перезимовавшей озимой пшеницы поместили в гипертонический раствор сахарозы. Плазмолиз наступил только в 20 % клеток. Как растения перенесли зимовку?

14. При погружении кусочков эпидермиса синего лука в гипертонические растворы сахарозы и мочевины оказалось, что в первом случае наступил стойкий плазмолиз, а во втором на смену плазмолизу вскоре пришел самопроизвольный деплазмолиз. Почему?

15. При погружении листочка элодеи в гипертонический раствор оказалось, что в клетках верхушки листа плазмолиз наступил на 20-й минуте, основания – только через час. Почему?

16. При помещении клеток эпидермиса синего лука в гипертонический раствор KNO_3 наблюдается сначала выпуклый, а потом колпачковый плазмолиз. При помещении же их в раствор сахарозы этого не происходит. Почему?

17. Живые клетки эпидермиса лука выдержали 10 минут в растворе 0,02 % нейтрального красного, другую партию – 20 мин в растворе 0,05 % индигокармина. По истечении указанного времени срезы промыли. Какова будет окраска и почему?

18. Где концентрируется эозин после проникновения в клетку: в цитоплазме или в вакуоли?

19. Семена фасоли перед посевом обработали раствором индигокармина, при этом около 70 % зародышей окрасились в синий цвет. Какие выводы относительно всхожести семян можно сделать?

20. Чему равно осмотическое давление 0,1М раствора глюкозы при 22 °С?

21. Клетка погружена в раствор. Осмотическое давление клеточного сока 7 кПа, среды – 5 кПа. Куда пойдет вода? Рассмотрите три возможных случая.

22. Клетка находится в состоянии начинающегося плазмолиза. Чему равно осмотическое давление клеточного сока и тургорное давление этой клетки, если известно, что ее сосущая сила равна 5 кПа?

23. 0,3 М раствор сахарозы, 0,15 М раствор $NaCl$ и 0,1М раствор $CaCl_2$ обладают одинаковым осмотическим давлением. Почему?

24. У какого раствора и почему больше осмотическое давление: у 5 % сахарозы ($C_{12}H_{22}O_{11}$) или 5 % глюкозы ($C_6H_{12}O_6$)?

25. Найти осмотическое давление клеточного сока при $17\text{ }^{\circ}\text{C}$, если известно, что $0,3\text{ M}$ и $0,4\text{ M}$ растворы сахарозы плазмолиза не вызывают, а в $0,5\text{ M}$ растворе наблюдается плазмолиз?

26. В клетках каких растений выше осмотическое давление клеточного сока – у растений на солончаках или на обычных почвах, на открытых сухих местах или в тени и почему?

27. Кусочки одной и той же растительной ткани погружены в ряд растворов, осмотическое давление которых равно $0,5$; $0,7$; 1 ; $1,2$; $1,6$; $1,8$ и 2 МПа . Перед погружением в растворы клетки имели тургорное давление $0,6\text{ МПа}$, а осмотическое давление клеточного сока $1,6\text{ МПа}$. В каких растворах: а) клетки будут всасывать воду; б) клетки будут отдавать воду; в) будет наблюдаться плазмолиз клеток?

28. В 6 сосудов налиты растворы сахарозы с концентрациями: $0,1$; $0,2$; $0,4$; $0,6$; $0,8$ и $1,0\text{ M}$. В эти растворы поместили полоски, вырезанные из картофельного клубня, длина которых до погружения составляла 40 мм . Через 30 минут длина полосок оказалась равной – $42,40$, 38 , 35 , 35 , 35 мм . Как объяснить полученные результаты? Почему длина полосок оказалась одинаковой в трех последних растворах?

29. Найти осмотическое давление $0,2\text{ M}$ раствора KCl при $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (изотонический коэффициент его – $1,8$).

30. Равны ли сосущая сила раствора и клетки, если концентрация клеточного сока и раствора одинаковы?

31. Клетка находится в состоянии полного насыщения водой. Чему равны ее сосущая сила и тургорное давление, если осмотическое давление клеточного сока составляет 8 кПа ?

32. Клетка, осмотическое давление клеточного сока которой 5 кПа , погружена в раствор KCl , где осмотическое давление 9 кПа . Что произойдет с клеткой? Объяснение подтвердить расчетом.

33. Растворы с осмотическим давлением 9 и 8 кПа вызвали плазмолиз в клетках исследуемой ткани, а с давлением 6 и 7 кПа плазмолиз не вызвали. Чему равно осмотическое давление клеточного сока?

34. Какова сосущая сила раствора, изотоничного клеточному соку ткани, если осмотическое давление последнего 7 кПа ?

35. Кусочки одной и той же растительной ткани погружены в растворы, осмотическое давление которых 5 , 6 , 10 , 12 , $16,18$, 20 кПа .

Клетки ткани перед погружением имели тургорное давление 6 кПа , осмотическое давление клеточного сока 16 кПа . В каких растворах клетки будут: всасывать воду, отдавать ее, находиться в состоянии плазмолиза?

36. После погружения растительной ткани в 10% раствор сахарозы концентрация последнего осталась без изменений. В какую сторону изменится концентрация 12% раствора сахарозы при погружении в нее этой ткани; почему?

37. Чему равна сосущая сила и тургорное давление клетки при насыщении ее водой, недонасыщении, плазмолизе и циторризе?

38. Чему равны сосущая сила и тургорное давление погруженной в раствор клетки после установления равновесия в поступлении и отдаче воды между нею и раствором, если известно, что осмотическое давление клеточного сока 15 кПа , раствора 12 кПа ?

39. Сосущая сила клетки $0,5\text{ МПа}$. Рассчитайте тургорное давление этой клетки, если ее осмотическое давление равно $1,2\text{ МПа}$.

40. Клетка находится в состоянии полного завядания (начала плазмолиза). Рассчитайте осмотическое давление клеточного сока и тургорное давление этой клетки, если известно, что ее сосущая сила $0,5\text{ МПа}$.

41. Как изменится длина кусочка растительной ткани, если ее опустить в раствор с осмотическим давлением $1,0\text{ МПа}$. Известно, что кусочек той же ткани в растворе с осмотическим давлением $0,8\text{ МПа}$ не изменился в размерах. Ответ объясните.

42. В живой протоплазме растительной клетки содержится 75% воды. Раствор NaCl какой концентрации будет гипертоническим, а какой гипотоническим относительно протоплазмы этой клетки?

43. Несмотря на то, что жиры обладают гидрофобными свойствами, в воде происходит набухание семян масличных культур. Как это можно объяснить?

44. Определить сосущую силу и тургорное давление погруженной в раствор клетки после установления равновесия между клеткой и раствором, если осмотическое давление клеточного сока было $1,4\text{ МПа}$, а наружного раствора – 1 МПа .

45. В 4 емкости с раствором NaCl с осмотическим давлением 0,3; 0,6; 0,9 и 1,2 МПа опущены полоски клубня картофеля длиной 40 мм. Через полчаса длина полосок соответственно оказалась 41, 40, 39, 38 мм. Почему?

46. Куски корня свеклы были измерены и погружены на 30 минут в растворы сахарозы разной концентрации. Оказалось, что в 0,3М растворе длина куска не изменилась, в 0,4М растворе уменьшилась, а в 0,2М растворе увеличилась. Как объяснить полученные результаты?

47. Найти сосущую силу клеток, если известно, что в растворах с осмотическим давлением 0,3 и 0,5 МПа размеры клеток увеличились, а в растворе, осмотическое давление которого 0,7 МПа, объем клеток уменьшился.

48. Чему равна сосущая сила клеток, если известно, что при погружении в 0,3 М раствор сахарозы размеры клеток увеличились, а в 0,4М растворе остались без изменения? Опыт проводился при температуре +27 °С.

49. Кусочки одной и той же растительной ткани погружены в ряд растворов, осмотическое давление которых равно 0,5; 0,7; 1; 1,2; 1,6; 1,8 и 2 МПа. Перед погружением в растворы клетки имели тургорное давление 0,6 МПа, а осмотическое давление клеточного сока 1,6 МПа. В каких растворах: а) клетки будут всасывать воду; б) клетки будут отдавать воду?

50. У двух соприкасающихся живых клеток осмотическое давление клеточного сока первой равно 1 МПа, а второй – 0,8 МПа. Каковы возможные направления движения воды? (Рассмотрите три случая.)

51. Корни одинаковых семян погружены в сосуды с растворами безвредных солей. Осмотическое давление растворов 0,1; 0,3; 0,5 и 0,7 МПа. Как будет происходить всасывание воды сеянцами, если осмотическое давление клеточного сока корневых волосков этих растений составляет 0,5 МПа?