



Министерство образования Республики Беларусь

Учреждение образования
«Белорусский государственный педагогический университет
имени Максима Танка»

УЧЕБНО-ПОЛЕВАЯ ПРАКТИКА ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

Рекомендовано учебно-методическим объединением
по педагогическому образованию в качестве практикума
для студентов высших учебных заведений, обучающихся
по специальностям 1-02 04 01 Биология; 1-02 04 04 Биология.
Дополнительная специальность; 1-02 04 05 География.
Дополнительная специальность
(1-02 04 05-01 География. Биология)

Минск 2012

БГПУ БИБЛИОТЕКА

ИНВ. №

170147

УДК 581.1(075.8)
ББК 28.57я73
У91

СОДЕРЖАНИЕ

Печатается по решению редакционно-издательского совета БГПУ

Авторы:

кандидаты биологических наук, доценты кафедры ботаники и основ сельского хозяйства БГПУ *Ж.Э. Мазец, Е.Р. Грицкевич*;
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры ботаники и основ сельского хозяйства БГПУ *И.И. Жукова*;
старший преподаватель кафедры ботаники и основ сельского хозяйства БГПУ *Д.М. Суленко*

Рецензенты:

кафедра физиологии и биохимии растений БГУ;
кандидат биологических наук, заведующий сектором биохимии ГНУ «ЦБС НАН Беларуси» *Е.В. Стиридович*

У91 **Учебно-полевая практика по физиологии растений : практикум**
Ж.Э. Мазец, И.И. Жукова, Д.М. Суленко и др. – Минск : БГПУ, 2012. – 124 с.

ISBN 978-985-541-076-9.

В пособии помещены методические рекомендации по выполнению индивидуальных и бригадных заданий, связанных с исследованием основных физиологических процессов растительного организма. Представлены правила оформления документации учебно-полевой практики по физиологии растений.

Адресуется студентам педагогических вузов, обучающимся по биологическим специальностям, а также учащимся средних учебных заведений с целью организации их научно-исследовательской работы по биологии.

УДК 581.1(075.8)
ББК 28.57я73

ISBN 978-985-541-076-9

© БГПУ, 2012

ВВЕДЕНИЕ	6
ОРГАНИЗАЦИЯ И СОДЕРЖАНИЕ ПРАКТИКИ	7 ✓
Организация практики	7
Содержание практики	7
Экскурсии во время практики	8
Требования по составлению отчета	9
Подведение итогов практики	9
МЕТОДИКА ПОЛЕВОГО ОПЫТА	10 ✓
Методы размещения повторений и вариантов на площади	11
Площадь и форма делянки	12
Методика отбора проб для морфологического анализа и физиологических исследований растений	13
Тема 1. ВОДНЫЙ РЕЖИМ	15
<i>Работа 1.</i> Определение интенсивности транспирации весовым методом по Л.А. Иванову	15
<i>Работа 2.</i> Присасывающее действие листьев	17
<i>Работа 3.</i> Явление корневого давления у растений	20
<i>Работа 4.</i> Влияние внешних условий на процесс гуттации	23
<i>Работа 5.</i> Поднятие воды в растении по сосудам	25
<i>Работа 6.</i> Учет содержания воды в листьях и определение абсолютно сухой массы	27
<i>Работа 7.</i> Определение водоудерживающей способности листьев	28
<i>Работа 8.</i> Расходование воды растением	31
Тема 2. ФОТОСИНТЕЗ	34
<i>Работа 1.</i> Изучение потребности в углекислом газе и свете при фотосинтезе	34
<i>Работа 2.</i> Изучение продуктов фотосинтеза	37
<i>Работа 3.</i> Накопление первичного крахмала в клетках C ₃ - и C ₄ -растений	39

<i>Работа 4.</i> Количественный состав пигментов в листьях высших растений	41
<i>Работа 5.</i> Определение активности хлорофиллазы в проростках.....	43
<i>Работа 6.</i> Определение интенсивности фотосинтеза (метод половинок).....	46
<i>Работа 7.</i> Влияние внешних факторов на процесс фотосинтеза.....	48
<i>Работа 8.</i> Влияние внекорневого питания на формирование хлоропластов и содержание пигментов.....	51
<i>Работа 9.</i> Авторегуляция фотосинтеза при нарушении межорганнх отношений у растений	55
Тема 3. ДЫХАНИЕ	59
<i>Работа 1.</i> Изучение ферментных систем дыхания растений.....	59
<i>Работа 2.</i> Рост корней при различном доступе воздуха к ним.....	63
Тема 4. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ	64
<i>Работа 1.</i> Определение сдвига рН среды в результате поглощения ионов NH_4^+ и NO_3^- из питательного раствора.....	64
<i>Работа 2.</i> Диагностика заболеваний растений при голодании по элементам минерального питания	65
<i>Работа 3.</i> Превращение нитратов в растениях	68
Тема 5. РОСТ И РАЗВИТИЕ	71
<i>Работа 1.</i> Тропические реакции растений	71
<i>Работа 2.</i> Определение энергии прорастания, всхожести и жизнеспособности семян	74
<i>Работа 3.</i> Действие гетероауксина на рост корней	76
<i>Работа 4.</i> Действие летучих выделений на прорастание семян и взаимное влияние растений.....	78
<i>Работа 5.</i> Действие вытяжки дрожжей на укоренение листовых черенков комнатных растений	80
<i>Работа 6.</i> Действие света на прорастание семян.....	82
<i>Работа 7.</i> Салициловая кислота – ингибитор роста растений.....	83
Тема 6. ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ РАСТЕНИЙ	86
<i>Работа 1.</i> Обнаружение алкалоидов в растениях	86
<i>Работа 2.</i> Обнаружение дубильных веществ в растениях	87
<i>Работа 3.</i> Определение содержания аскорбиновой кислоты (витамина с)	87

Тема 7. ФИЗИОЛОГИЯ СТРЕССА	90
<i>Работа 1.</i> Определение жаростойкости растений	90
<i>Работа 2.</i> Определение степени суккулентности листьев.....	91
<i>Работа 3.</i> Определение засухоустойчивости растений	94
<i>Работа 4.</i> Защитное действие сахарозы на белки при отрицательных температурах	96
<i>Работа 5.</i> Влияние засоления на растения	98

ПРИЛОЖЕНИЕ	101
<i>Приложение 1.</i> Статистическая обработка данных.....	101
<i>Приложение 2.</i> Приготовление некоторых растворов и реактивов.....	106
<i>Приложение 3.</i> Морфофизиологические показатели оценки роста растений и посевов.....	108
<i>Приложение 4.</i> Нормативные показатели	113
<i>Приложение 5</i>	115
<i>Приложение 6</i>	116
<i>Приложение 7</i>	117
<i>Приложение 8</i>	118
<i>Приложение 9</i>	119
<i>Приложение 10</i>	120

ЛИТЕРАТУРА	123
-------------------------	-----

Опыт 2. Влияние удаления с растения потребляющих органов (точки роста, бутоны, цветки) на фотосинтетическую функцию листьев

Опыт проводят по вариантам: 1) удаляют все точки роста, а также, если имеются, бутоны и цветки, 2) потребляющие органы не удаляют.

В левых долях третьего от верхушки главного побега листа определяют те же показатели фотосинтетического аппарата, что и в опыте 1. Определяют площадь оставшихся на растении частей листьев (S_2).

Через 4–5 дней делают те же измерения в правых долях третьего листа. После этого все листья с растения удаляют, измеряют их площадь (S_3) и ее прирост за время опыта ($S_3 - S_2$).

Данные заносят в таблицу 2, аналогичную таблице 1.

На основании данных, полученных в опытах 1 и 2, делают выводы о влиянии на структуру и активность фотосинтетического аппарата растений частичного удаления питающих органов и полного удаления потребляющих, о межорганных взаимодействиях на уровне растения как целостной системы. Какой из параметров проявляет более четкую реакцию на нарушение межорганных взаимодействий? Объясняют причины изменения характеристик фотосинтезирующего аппарата при полном удалении потребляющих или частичном питающих органов. Указывают, в каких темах курса биологии в средней школе и для иллюстрации какого основного положения биологии можно использовать данный опыт.

Тема 3. ДЫХАНИЕ

Работа 1

ИЗУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ ДЫХАНИЯ РАСТЕНИЙ

Процессы дыхания в клетках обеспечиваются активностью участвующих в них ферментов – *оксидоредуктаз*, которые катализируют реакции переноса электронов от окисленного субстрата – донора электронов к акцептору электронов. Во многих реакциях электрон переносится вместе с протоном. Оксидоредуктазы, катализирующие перенос водорода, называют *дегидрогеназами*. Акцептором электронов служит кислород или различные соединения, так называемые промежуточные акцепторы. Оксидоредуктазы, катализирующие перенос электронов на молекулярный кислород или на кислород пероксида водорода и органических перекисей, называют *оксидазами*. В дыхательной цепи митохондрий конечной оксидазой является *цитохромоксидаза*. Среди митохондриальных оксидаз, не связанных с электрон-транспортной цепью митохондрий, выделяют группу цианидустойчивых оксидаз, называемых *альтернативными оксидазами*.

К оксидоредуктазам относится и *каталаза*, которая в клетках выполняет функцию обезвреживания очень активного и потому опасного для живых клеток окислителя – перекиси водорода, катализируя реакцию $2\text{H}_2\text{O}_2 = 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. Особенно этот фермент активен в молодых растущих тканях, а также в зеленых листьях, где участвует в процессе фотодыхания.

Растительные ткани с интенсивным метаболизмом характеризуются интенсивным дыханием и высокой активностью оксидоредуктаз.

Цель работы: сравнить активность дегидрогеназ и каталазы в разных тканях растения.

Объекты, реактивы и оборудование

Опыт 1. Набухшие и наклюнувшие семена кукурузы, подсолнечника, фасоли; 0,1 %-й раствор трифенилтетразолия хлористого (ТТХ), приготовленный на 0,87 %-м водном растворе K_2HPO_4 ; микроскоп, предметные и покровные стекла, часовые стекла, лезвия безопасной бритвы, термостат.

Опыт 2. Набухшие (но не проросшие) семена и проростки бобов, фасоли, тыквы, спящие и прорастающие почки деревьев; 0,1 %-й раствор трифенилтетразолия хлористого (ТТХ), приготовленный на 0,87 %-м водном растворе K_2HPO_4 ; 0,87 %-й водный раствор K_2HPO_4 ; этанол; ФЭК, стеклянные бюксы, весы торсионные, лезвия безопасной бритвы, медицинский шприц, мерные цилиндры на 10 мл.

Опыт 3

Вариант 1: проростки кукурузы, бобов, тыквы, листья элодеи; 5 %-й раствор перекиси водорода; лупа, предметные и часовые стекла, лезвия безопасной бритвы, спиртовка;

Вариант 2: растительный материал (например, пеларгония, хлорофитум, узумбарская фиалка; например, сухие, набухшие и наклюнувшиеся семена), 3 %-й раствор перекиси водорода, пробочное сверло, ступка с пестиком, нож, пробирки, пипетки, фильтры.

Ход работы

Опыт 1. Количественная реакция с тетразолием на общую дегидрогеназную активность тканей

На часовое стекло в 2–3 мл раствора ТТХ поместить срезы, сделанные с семян (толщина срезов 0,5–1 мм). При наличии в тканях активных дегидрогеназ спустя 30–60 мин на срезах появляется окрашивание (для ускорения окрашивания срезы можно поместить в термостат с температурой 30–35 °С).

Рассмотреть срезы под микроскопом или лупой.

Для уверенности, что окраска обусловлена активностью ферментов, необходимо ставить контроль со срезами, в которых ферменты инактивированы. Для этого срезы кипятят в воде 2–3 мин. Затем используют их в тех же реакциях, что и живые.

Установить локализацию дегидрогеназной активности в тканях. Дать сравнительную оценку активности разных тканей по интенсивности окрашивания. О величине дегидрогеназной активности отдельных тканей можно также судить по скорости появления в них окраски, обусловленной формазаном: где окраска появляется раньше, там самая высокая активность этих ферментов.

Опыт 2. Количественное определение активности дегидрогеназ

Зародыши освободить от семенной кожуры, с почек снять чешуи. Взять по две навески (200–300 мг) исследуемых объектов – семядолей или почек без чешуй. Разрезать лезвием на тонкие пластинки толщиной 1–2 мм.

Срезы разных объектов поместить в отдельные стеклянные бюксы. В один бюкс налить 10 мл раствора ТТХ, в другой – 10 мл 0,87 %-го раствора K_2HPO_4 . Затем все срезы инфильтровать этими же растворами с помощью медицинского шприца. После инфильтрации вновь перенести срезы в бюксы, закрыть крышками и поместить на 30 мин в термостат с температурой 37 °С. Срезы в бюксах с раствором ТТХ приобретают красный цвет, интенсивность которого зависит от активности дегидрогеназ.

Вновь вынуть срезы каждой пробы из бюкса и растереть их в ступке с небольшим количеством этанола. Содержимое ступки перенести в мерный цилиндр и довести этанолом до определенного объема (5–10 мл), выбранного по интенсивности окраски раствора (чем интенсивнее окраска, тем больший можно выбрать объем). Остатки измельченных образцов должны полностью обесцветиться.

После растирания пробы центрифугируют, и полученный экстракт, окрашенный формазаном, сразу колориметрируют на ФЭКе при синем светофильтре. Если в исследуемых тканях имеется хлорофилл и контрольная вытяжка окрашивается в зеленый цвет, а опытная – вместо красного в бурый, то колориметрирование проводят при зеленом светофильтре, что значительно снижает помехи, обусловленные дополнительным зеленым окрашиванием.

Об активности дегидрогеназ судят по разнице в оптической плотности между величиной показаний ФЭКа в опытной и контрольной пробах. Для получения достоверных данных по активности дегидрогеназ в данном объекте исследование необходимо повторить не менее 3 раз.

Величину дегидрогеназной активности в данных объектах выражают в относительных единицах, исходя из разницы в величинах оптической плотности опытной (с ТТХ) и контрольной (без ТТХ) проб.

Опыт 3. Определение активности каталазы

Вариант 1. С проростков делают срезы толщиной 0,5–1 мм, а с побегов элодеи отрывают отдельные листья. Часть срезов и листьев убивают, нагревая их в капле воды на предметном стекле над пламенем спиртовки.

Живые и убитые срезы и листья помещают в воду на часовое стекло и добавляют несколько капель раствора перекиси водорода. Под лупой наблюдают появление пузырьков газа у поверхности живых срезов и листьев. Это выделяется кислород в результате разложения перекиси под действием каталазы. Отмечают отсутствие пузырьков у убитых объектов.

Сделать вывод о наличии активности каталаз в живых тканях и об отсутствии ее в мертвых.

Вариант 2. Из листа растения пробочным сверлом диаметром 1 см сделать 5 высечек, не захватывая крупные жилки. При работе с мясистыми органами растений (клубни, корнеплоды), перед тем как делать высечки, необходимо нарезать ткань пластинками толщиной 4–5 мм.

Диски растереть в ступке с добавлением небольшого количества воды (до 1 мм). Если ткань жесткая, добавить немного песка. К растертой кашице прилить 5 мл воды, тщательно перемешать и профильтровать в чистую сухую пробирку через увлажненный складчатый фильтр. Для работы достаточно 3–4 мл вытяжки фермента.

Добавить к вытяжке 2 мл 3 %-й перекиси водорода. В результате разложения перекиси водорода ферментом выделяются пузырьки кислорода, дающие хорошо заметную пену. Для сравнения активности каталазы в различных объектах необходимо брать равное по массе количество материалов.

Активность фермента оценить в баллах и результаты записать в таблицу.

Таблица

Объект исследования	Вариант опыта	Активность каталазы, балл
	Корень	
	Стебель	
	Лист: молодой	
	--/-- зрелый	
	--/-- старый	

Балл активности фермента каталазы:

0 – отсутствие активности,

1 – очень слабое образование пены,

2 – слабое образование пены,

3 – умеренное образование пены,

4 – интенсивное образование пены.

Сделать вывод об активности каталазы в различных органах растения.

Работа 2

РОСТ КОРНЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНОМ ДОСТУПЕ ВОЗДУХА К НИМ

Рост корня обычно опережает рост надземных органов. Эта очень важная особенность связана с тем, что корень поставляет воду в образующиеся побеги. Для поступления воды в корни нужна энергия, поэтому этот процесс зависит от интенсивности дыхания корней. Условия, подавляющие дыхание, резко тормозят рост корней и поступление воды в них.

Цель: выяснить, влияет ли на рост корней доступ воздуха к ним.

Объекты, реактивы и оборудование

Проросшие семена гороха (4–5 штук) с корнем в 1–2 см или наклонившиеся семена редиса (15–20 штук); стеклянная банка на 0,25–0,3 л; картон; ножницы; мелкий песок; вата; бумага оберточная (газетная).

Ход работы

В начале опыта изготавливают из картона вертикальную перегородку для банки, чтобы отделить в ней небольшую воздушную камеру. В перегородке прокалывают многочисленные отверстия и устанавливают ее в банке так, чтобы вертикальные края плотно прилегали к стенкам, а расстояние между стенкой и картоном было примерно 2 см. Большое пространство банки заполняют влажным песком, уплотняя его. В песок высевают семена гороха или редиса. Глубина заделки семян не должна превышать 2 см. Меньшее пространство (воздушную камеру) закрывают сверху кусочком ваты, а всю банку обертывают бумагой, тщательно закрывая от света. Песок регулярно поливают, особенно после появления всходов, не допуская его пересыхания (при поливке вода должна смочить весь песок и выступить на дне воздушной камеры).

Через неделю можно наблюдать результат опыта: все корни или основная масса их располагаются в слое песка, прилегающем к картонной стенке воздушной камеры; в песке, прилегающем к стеклу, встречаются лишь единичные корни.

Сделать вывод о влиянии доступа воздуха к корням на их рост и выяснить, где данные результаты используются.