

ФАЗЛУТДИНОВА А.И.

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ
ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**

Учебно-методическое пособие

Уфа 2008

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. М.АКМУЛЛЫ

Фазлутдинова А.И.

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ
ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

Учебно-методическое пособие

Уфа 2008

УДК
ББК
К

Печатается по решению
редакционно-издательского совета
Башкирского государственного
педагогического университета
им. М. Акмуллы

Фазлутдинова А.И. Лабораторный практикум по физиологии растений: Учебно-методическое пособие. - Уфа: Изд-во БГПУ им. М. Акмуллы, 2008. – с.

Пособие представляет собой руководство для самостоятельной подготовки и выполнения лабораторных работ по дисциплине «Физиология растений». Разделы пособия и подбор лабораторных работ определены общеобразовательной программой по физиологии растений. В каждом разделе пособия приведены описания лабораторных работ, даны методические указания к выполнению опытов и описания приборов необходимых, для выполнения того или иного эксперимента. В конце каждого раздела помещены контрольные вопросы, необходимые для закрепления полученных знаний приобретенных во время проведения лабораторных работ.

Пособие предназначено для студентов биологических специальностей вузов, а также учителям школ и педагогам дополнительного образования для проведения учебного эксперимента на уроках биологии.

Рецензенты: Рахманкулова З.Ф., д.б.н., профессор (БГУ)
Абросимова О.А., к.б.н., доц. (БГПУ им. М.Акмуллы)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Дисциплина «Физиология растений» дает фундаментальное представление о функциональных особенностях растительного организма. Целью дисциплины является изучение общих закономерностей и конкретных механизмов, лежащих в основе жизнедеятельности растений. В задачи дисциплины входит изучение функций растительных организмов для понимания анатомических и морфологических особенностей растений на основе современных достижений науки, а также информация о месте отдельных молекулярных механизмов в метаболизме растительной клетки и их роли в регуляции жизни растения.

Изучение дисциплины ведет к формированию у студента естественнонаучного мировоззрения на базе понятий, как о своеобразии жизни растений, так и об общих закономерностях организации всего живого и способствует активизации знаний студентов в области химии и физики и позволит применить их при изучении жизни растений. «Физиология растений» дает представление о теоретических основах экологии растений, системе охраны окружающей среды, основ агрохимии и рационального сельского хозяйства и позволяет исследовать пути применения биотехнологических производств на базе растений.

Пособие состоит из нескольких разделов, каждый из которых включает в себя несколько лабораторных работ, соответствующих определенной теме учебного плана. В конце каждой работы приведены контрольные вопросы и задания, на которые должен ответить студент, после выполнения практической работы. Приведенные в пособии лабораторные работы направлены на развитие навыков постановки вопроса и его разрешения при помощи эксперимента, так как каждый опыт сопровождается наблюдением и количественным или качественным учетом и представляет собой небольшое законченное исследование. В результате проведенной работы студенту необходимо суметь обсудить результаты своего опыта, сделать соответствующие выводы и связать полученные в ходе эксперимента знания с теоретической базой, которую он получил на лекциях и в ходе самостоятельного освоения дисциплины. Для выполнения этой части работы подразумевается проведение коллоквиумов, где студент совместно с дру-

гими студентами и преподавателем имеет возможность обсудить каждый раздел дисциплины. Для этого в пособии предусмотрены вопросы и задания для коллоквиума и список рекомендуемой литературы.

Требования к уровню освоения содержания дисциплины. В целом, в результате изучения дисциплины «Физиология растений» студенты должны: иметь представления на молекулярном, клеточном и организменном уровнях как об отдельных функциях растительного организма – фотосинтезе, дыхании, минеральном питании, водном режиме, так и об интеграции этих процессов и в росте и развитии растений и механизмах адаптации к изменяющимся условиям среды; знать историю формирования отдельных представлений в области физиологии растений и описание классических экспериментов; представлять специфические особенности растений в сравнении с животными; овладеть методикой постановки опытов по физиологии растений и навыкам исследовательской работы; применять теоретические знания по физиологии растений и уметь ставить простейшие опыты в условиях школы.

Рекомендации по использованию данного методического пособия.

1. Ознакомиться со структурой пособия.
2. Внимательно прочитать пояснительную записку, чтобы представить себе весь объем работы.
3. Ознакомиться со всеми разделами, отметить наиболее сложные для вас темы и обратить на них особое внимание.
4. Просмотреть список рекомендуемой литературы.
5. Познакомиться с темами контрольных вопросов к коллоквиуму.
6. Перед выполнением лабораторных работ следует внимательно ознакомиться с ходом работы, отметить для себя неясные вопросы, сформулировать цель эксперимента. После выполнения опытов записать результаты и сделать выводы.
7. Проверить степень усвоения материала с помощью предложенных контрольных вопросов и заданий.

РАЗДЕЛ 1. ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

1.1. ПОГЛОЩЕНИЕ ВЕЩЕСТВ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКОЙ

Лабораторная работа № 1.

Явление плазмолиза и деплазмолиза

Материалы и оборудование. Лук сорта «Кармен» или лист традесканции, лезвие бритвы, предметные и покровные стекла, стеклянная палочка, препаровальная игла, пинцет, микроскоп, стакан с водой, 1М раствор сахарозы, фильтровальная бумага, спиртовка.

Ход работы. Сделать бритвой срез эпидермиса объекта исследования, клетки которого содержат антоциан. Во избежание повреждения клеток эпидермиса желательно, чтобы срезы состояли из двух слоев клеток.

Поместить срез в капле воды на предметное стекло и рассмотреть его в микроскоп. Затем заменить воду на 1М раствор сахарозы, для чего нанести на предметное стекло рядом сосрезом большую каплю раствора и отсосать воду кусочком фильтровальной бумаги, прикладывая ее с другой стороны среза. Повторить этот прием 2-3 раза до полной замены воды раствором. Все это время продолжать следить в микроскоп за состоянием клетки.

Через 15-20 минут, когда плазмолиз станет хорошо заметен, ввести в срез каплю воды, отсасывая раствор фильтровальной бумагой, при этом наблюдая в микроскоп изменения происходящие в клетке.

Приготовить второй срез эпидермиса, поместить его в большую каплю воды и нагреть препарат над пламенем спиртовки (нагрев осуществлять осторожно, не допуская полного испарения воды). После чего отсосать оставшуюся в препарате воду фильтровальной бумагой и нанести на срез каплю 1М раствора сахарозы, рассмотреть препарат в микроскоп и установить происходит ли в данном случае плазмолиз.

Записать результаты наблюдений и выводы, сделать рисунки клеток в воде и после пребывания в растворе.

Контрольные вопросы.

1. Каковы причины возникновения плазмолиза в растительных клетках?
2. Каким образом происходит деплазмолиз?
3. Способны ли плазмолизироваться мертвые клетки?
4. Какие формы плазмолиза Вы знаете?

Лабораторная работа № 2.

Определение вязкости цитоплазмы по времени плазмолиза

Материалы и оборудование. Лук сорта «Кармен», лист традесканции, капуста краснокочанная, лезвие бритвы, предметные и покровные стекла, стеклянная палочка, препаровальная игла, пинцет, микроскоп, 1М раствор сахарозы, фильтровальная бумага.

Ход работы. Под временем плазмолиза подразумевается промежуток времени (в минутах) с момента погружения ткани растения в гипертонический раствор до наступления первых признаков выпуклого плазмолиза в клетках. Время плазмолиза зависит от вязкости цитоплазмы клетки: чем меньше вязкость цитоплазмы, тем легче она отстает от клеточной стенки и тем быстрее вогнутый плазмолиз переходит в выпуклый.

Срезы эпидермиса лука, традесканции и капусты поместить в каплю сахарозы. Отметить время погружения исследуемых объектов в раствор. Рассматривая препараты под микроскопом (с интервалом в 2 минуты с начала эксперимента) определить время плазмолиза.

Результаты опыта занести в таблицу, сформулировать выводы.

Растение	Время погружения, мин	Начало уголкового плазмолиза, мин	Начало вогнутого плазмолиза, мин	Время плазмолиза, мин
Лук				
Традесканция				
Капуста				

Контрольные вопросы.

1. От каких факторов зависит вязкость цитоплазмы?
2. Почему разные виды растений имеют разное время плазмолиза?
3. Является ли степень вязкости цитоплазмы одним из приспособительных механизмов к неблагоприятным факторам среды? Если да, то почему?

Лабораторная работа № 3.

Влияние ионов калия и кальция на форму и время плазмолиза

Материалы и оборудование. Лук сорта «Кармен», лезвие бритвы, предметные и покровные стекла, стеклянная палочка, препаровальная игла, пинцет, микроскоп, растворы: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3 , фильтровальная бумага.

Ход работы. Катионы солей оказывают специфическое воздействие на цитоплазму. В одном случае сократившийся протопласт образует на своих полюсах набухшие участки – колпачки, которые располагаются по обе стороны вакуоли (от поперечных стенок протопласт отходит быстрее, чем от продольных, так как поверхность этих стенок меньше).образова-

ние колпачков свидетельствует о проницаемости цитоплазмы для ионов K^+ и накоплении их в мезоплазме: ионы K^+ способствуют набуханию цитоплазмы и уменьшению ее вязкости.

Ионы кальция также проникают через плазмалемму и накапливаются в мезоплазме. Они оказывают на цитоплазму противоположное действие, уменьшают ее гидратацию, увеличивая вязкость. У вязкой цитоплазмы очень велики силы молекулярного сцепления с клеточной оболочкой, протопласт отходит от стенок клетки очень медленно и сначала лишь на отдельных участках, поэтому в растворе солей кальция в клетках образуется вогнутый плазмолиз.

Срез эпидермиса с выпуклой поверхностью чешуи лука помещают в каплю испытуемого раствора и приступают к просматриванию под микроскопом. Следят за сменой форм плазмолиза. Определяют время плазмолиза в каждой соли.

Зарисовать плазмолизованные клетки. На основании полученных результатов сделать выводы. Результаты опыта занести в таблицу.

Соль	Концентрация, М	Время погружения в раствор	Время начала углового плазмолиза	Время плазмолиза, мин
KNO_3				
$Ca(NO_3)_2$				

Контрольные вопросы.

1. Почему катионы солей оказывают различное действие на цитоплазму?
2. На какие свойства цитоплазмы влияют ионы калия и кальция?
3. Как действие ионов калия и кальция отражается на времени плазмолиза?

Лабораторная работа № 4.

Стойкий и временный плазмолиз в растительных клетках. Сравнение проницаемости цитоплазматических мембран для различных веществ.

Материалы и оборудование. Побеги элодеи, лезвие бритвы, предметные и покровные стекла, стеклянная палочка, препаровальная игла, пинцет, микроскоп, 1М растворы сахарозы и мочевины, фильтровальная бумага.

Ход работы. На два предметных стекла наносят по капле 1М растворов: на первое – глюкозы, на второе – мочевины. В каждую каплю помещают по одному листу элодеи. Объекты покрывают покровными стеклами и через 2-3 минуты рассматривают под микроскопом. Зарисовывают плазмолизованные клетки и отмечают время начала наблюдения. Затем откладывают препараты на 0,5-1ч. При завершении эксперимента отмеча-

ют, в каком из растворов сохранился плазмолиз, а в каком наступил деплазмолиз.

Зарисовать клетки, показав различное действие на них гипертонических растворов глюкозы и мочевины. Сформулировать выводы.

Контрольные вопросы.

1. Как объяснить стойкий (сохраняющийся длительное время) плазмолиз клеток в растворе глюкозы?
2. Какова проницаемость плазмалеммы и тонопласта для молекул мочевины?

Лабораторная работа № 5.

Поступление нейтрального красного в клеточную вакуоль

Материалы и оборудование. Луковица, лезвие бритвы, предметные и покровные стекла, стеклянная палочка, препаровальная игла, пинцет, микроскоп, 1М раствор роданида калия KSCN, раствор нейтрального красного, фильтровальная бумага.

Ход работы. Для опыта используется нейтральный красный, который легко проникает в вакуоль, потому что почти не задерживается пограничными мембранами и мезоплазмой клетки.

Кусочек верхнего эпидермиса чешуи лука помещают на предметное стекло в каплю красителя, покрывают покровным стеклом и сразу же рассматривают под микроскопом. На первых этапах видно, что все клетки ткани равномерно окрашиваются в красный цвет. Через 10 минут вызывают плазмолиз клеток ткани раствором роданида калия (KSCN). Для этого отсасывают кусочком фильтровальной бумаги краситель, а с другой стороны стекла наносят 2-3 капли роданида калия. Через 5 минут рассматривают препарат под микроскопом.

Зарисовать плазмолизованные клетки. Сделать выводы.

Контрольные вопросы.

1. Какова проницаемость плазмалеммы и тонопласта для молекул нейтрального красного?
2. Будет ли нейтральный красный поступать в вакуоли мертвых клеток? Почему?

Лабораторная работа № 6.

Проницаемость цитоплазмы живых и мертвых клеток

Материалы и оборудование. Красная свекла, 3 пробирки, штатив для пробирок, стеклянная банка, карандаш по стеклу, нож, фильтровальная бумага, стакан с водой, 30% раствор уксусной кислоты, 1М раствор сахара-розы.

Ход работы. За 1-2 часа до начала опыта из корнеплода свеклы вырезают несколько одинаковых кубиков со стороной около 8мм и, поместив в банку, промывают их в воде до тех пор, пока из пораненных клеток не перестанет выходить в воду окрашенный антоцианом клеточный сок. Затем в три пробирки наливают по 5мл воды, а в третью – раствор уксусной кислоты. Первую пробирку оставляют для контроля. Содержимое второй пробирки кипятят 5-7 минут. Через 30 минут пробирки встряхивают и отмечают интенсивность окраски. По изменению окраски судят о степени повреждения растительной клетки.

Затем кубики свеклы достают из пробирок и из каждого кубика делают тонкие срезы. Помещают срезы на предметные стекла в каплю раствора сахарозы и наблюдают под микроскопом.

Зарисовать клетки. Результаты опыта занести в таблицу. Сделать выводы.

Номер пробирки	1	2	3
Вариант опыта	водопроводная вода (контроль)	кипячение	30% раствор уксусной кислоты
Окраска раствора в пробирке			
Окраска среза			
Рисунок клетки			

Контрольные вопросы.

1. Чем вызвано различие в окраске растворов в контрольной и опытных пробирках?
2. Что является причиной выхода веществ из клетки при повреждении цитоплазматической мембраны?
3. О чем свидетельствует отсутствие плазмолиза в клетке?

Лабораторная работа № 7.

Осмотический выход воды из плазмолизированных клеток

Материалы и оборудование. Картофель, концентрированный глицерин, канцелярские скрепки, нож, пробирка, штатив для пробирки, фильтровальная бумага.

Ход работы. Пробирку наполняют концентрированным глицерином. Из клубня картофеля вырезают кубик со стороной около 8мм и погружают в пробирку с глицерином. Перед погружением картофель обсушивают фильтровальной бумагой и втыкают в него канцелярскую скрепку, чтобы кусочек картофеля не всплывал в глицерине. Наблюдение за выделением воды начинают сразу после погружения кусочка картофеля в глицерин. Пробирка во время наблюдения должна находиться в совершенном покое.

Вода, выходящая благодаря плазмолизу из ткани, имеет значительно меньший удельный вес, чем концентрированный глицерин и смешивается с ним очень медленно. В результате этого над кубиком картофеля возникает постоянный восходящий ток струи воды, ясно видимый вследствие различия показателей преломления воды и глицерина.

Сделать рисунок, показывающий выход воды из плазмолизированной ткани. Сформулировать вывод.

Контрольные вопросы.

1. Почему из кубика картофеля в глицерин выделяется вода?
2. Какие условия необходимо создать, чтобы прекратить выход воды из картофеля в глицерин?

Лабораторная работа № 8.

Определение жизнеспособности семян методом окрашивания

Материалы и оборудование. Набухшие семена гороха, раствор индигокармина 1:2000 (0,5г на 1л дист. воды), фарфоровая чашка, препаровальная игла.

Ход работы. Метод окрашивания семян с целью определения их всхожести основан на непроницаемости живой цитоплазмы для некоторых красок (индигокармин, кислый фуксин), тогда, как мертвая цитоплазма прокрашивается. Бывают случаи, когда зародыш мертвый, и тем не менее при погружении семени в раствор он не окрашивается из-за того, что окружающие части семени не пропускают краситель. В связи с этим необходимо предварительно обнажить зародыш: извлечь зародыш, разрезать семя вдоль или удалить семенные покровы.

Очистить 10-20 набухших семян гороха от кожуры. Очищенные семена поместить в фарфоровую чашку и залить раствором индигокармина и выдержать 30-40 минут, после чего слить краситель, а семена промыть водопроводной водой от избытка красителя. Подсчитать количество окрашенных, слабо окрашенных и неокрашенных семян.

Результаты опыта занести в таблицу. Сделать выводы.

Количество семян	Окрашенные	Слабо окрашенные	Неокрашенные

Контрольные вопросы.

1. Почему краситель окрашивает нежизнеспособные семена и не окрашивает живые?
2. Способны ли окрашиваться живые клетки? Почему?

1.2. ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

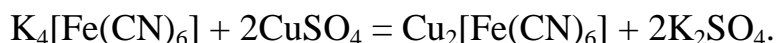
Лабораторная работа № 9.

Получение полупроницаемой мембраны – опыт с искусственной «клеточкой» Траубе

Материалы и оборудование. Желтая кровяная соль (в кристаллическом виде), 0,5% раствор медного купороса, пробирка, штатив для пробирок, пинцет.

Ход работы. Полупроницаемые мембраны могут быть не только биологические, но и полученные химическим путем. В частности, пленка состоящая из ферроцианида меди, обладает свойством идеальной полупроницаемости. Она проницаема только для воды, поэтому ее можно использовать для наблюдения явления осмоса.

В пробирку наливают $\frac{3}{4}$ объема 0,5% раствора медного купороса, а на дно этой пробирки помещают 2-3 кристаллика желтой кровяной соли. Вокруг кристаллика в результате взаимодействия солей образуется осадочная мембрана ферроцианида меди:



Эта мембрана образует замкнутый мешочек, названный автором опыта Траубе – искусственной клеточкой. Полупроницаемая мембрана ферроцианида меди разделяет два раствора разной концентрации: внутри мешочка находится концентрированный раствор ферроцианида калия, а снаружи – раствор сульфата меди. Возникает ток воды внутрь мешочка, объем раствора ферроцианида калия увеличивается, в результате чего мембрана растягивается. Будучи очень тонкой, эта мембрана в отдельных местах разрывается под действием гидростатического давления. В этих местах соли снова взаимодействуют, возникают новые участки мембраны, что приводит к неравномерному увеличению размера искусственной клетки.

Изобразить искусственную «клеточку» Траубе, на рисунке указать концентрацию растворов и направление движения воды. Сделать выводы.

Контрольные вопросы.

1. В каком случае объем клеточки Траубе прекратит увеличиваться?
2. Что произойдет с искусственной клеточкой, если в пробирку добавить кристаллики поваренной соли?

Лабораторная работа № 9.

Определение величины осмотического давления в клетка растительной ткани плазмолитическим методом (по де-Фризу)

Материалы и оборудование. Лук сорта «Кармен», 1М раствор NaCl или сахарозы, дистиллированная вода, микроскоп, предметные и покровные стекла, мерная пипетка, лезвие бритвы, часовое стекло, препаровальная игла, фильтровальная бумага, пинцет, 8 пробирок, штатив для пробирок.

Ход работы. Осмотическое давление – это диффузное давление, возникающее в результате осмотического передвижения молекул воды. Мерой осмотического давления служит то давление, которое нужно приложить к раствору, чтобы воспрепятствовать прохождению растворителя в раствор через полупроницаемую перепонку. Величина осмотического давления клеточного сока пропорциональна его концентрации и абсолютной температуре.

Плазмолитический метод определения осмотического давления клеточного сока основан на подборе наружного раствора известной концентрации, осмотическое давление которого будет находиться в равновесии с осмотическим давлением клеток. В качестве плазмолитика обычно используют раствор хлористого натрия или сахарозу. Сильный плазмолиз показывает, что осмотическое давление внешнего раствора значительно больше, чем осмотическое давление клетки. Отсутствие плазмолиза может означать, что осмотическое давление раствора меньше осмотического давления клетки или равно ему. Задача данного метода сводится к тому, чтобы подобрать наружный раствор такой концентрации, который вызывает начальный уголковый плазмолиз не менее чем у 50% клеток погруженного в раствор кусочка исследуемой ткани. Изотонический раствор будет находиться между этим раствором и следующим (более слабым), который не вызывает плазмолиз. Отсюда следует, что концентрация изотонического раствора равна среднему арифметическому между концентрациями указанных соседних растворов.

Приготовить по 10мл растворов хлористого натрия или сахарозы в следующих концентрациях: 0,8; 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 и 0,1М, наливая в пробирки соответствующие количества 1М раствора соли и дистиллированной воды (например, для того чтобы приготовить 0,8М раствор необходимо в пробирку прилить 8мл 1М раствора соли и 2мл дистиллированной воды, для 0,7М раствора – 7мл 1М раствора и 3мл воды и т.д.). Тщательно перемешать растворы. Приготовить 16 срезов эпидермиса лука и поместить их в воду на часовое стекло. При погружении в воду удаляется сок, вытекающий из поврежденных клеток, и достигается одинаковое состояние всех срезов.

Через 5 минут извлечь срезы из воды, обсушить их фильтровальной бумагой и погрузить по два среза в каждый раствор, начиная с самого концентрированного с интервалом в 5 минут. Во время опыта необходимо следить, чтобы срезы не всплывали на поверхность, а были погружены в раствор (если срез всплывет, его необходимо «утопить» при помощи пре-

паровальной иглы). После 20-ти минутного пребывания срезов в соответствующем растворе их просматривают под микроскопом в капле того же раствора в котором они находились. Рассматривают срезы в том порядке, в каком погружали в растворы, с интервалом в 5 минут. Этим обеспечивается одинаковая продолжительность нахождения срезов в растворах. С каждого препарата в таблицу зарисовывают по 2 клетки с типичной степенью плазмолиза с указанием в графе «степень плазмолиза» - его форму (выпуклый, вогнутый, уголковый).

Найти концентрацию изотонического раствора и вычислить осмотическое давление клеточного сока по уравнению Вант-Гоффа: $P = R \cdot T \cdot c \cdot i$. Результаты опыта оформить, заполнив таблицу. Сформулировать выводы.

Концентрация раствора, М	Время погружения	Время наблюдения	Степень плазмолиза	Рисунок клеток	Концентрация изотонического раствора, М
0,8					
0,7					
0,6					
0,5					
0,4					
0,3					
0,2					
0,1					
Осмотическое давление клеточного сока, атм		$P = R \cdot T \cdot c \cdot i =$			

Контрольные вопросы.

1. От каких показателей зависит величина осмотического давления клеточного сока?
2. Для чего в уравнение Вант-Гоффа вводится изотонический коэффициент?
3. Какие методы определения осмотического давления Вы знаете?
4. Почему осмотическое давление у растворов электролитов всегда выше, чем у не электролитов в той же молярной концентрации?
5. Что такое изотоническая концентрация?

Лабораторная работа № 10. Явление тургора

Материалы и оборудование. Картофель, 1М раствор NaCl или сахарозы, дистиллированная вода, нож или скальпель, препаровальная игла, фильтровальная бумага, пинцет, 2 пробирки, штатив для пробирок, линейка.

Ход работы. По мере насыщения клетки водой увеличивается гидростатическое давление на клеточную оболочку. Оно обуславливает напряженное состояние клетки, ее тургор. Клеточная оболочка под влиянием тургорного давления растягивается, что влечет за собой возникновение противодействия клеточной стенки на ее содержимое. Это противодействие всегда равно гидростатическому тургорному давлению, но противоположно ему по знаку.

При полном насыщении клетки водой весь осмотический потенциал полностью реализуется в виде гидростатического тургорного давления, которое, в свою очередь, уравнивается противодействием клеточной оболочки. В этих условиях $P=T=W$, и вода не будет входить в клетку, как бы высока не была концентрация клеточного сока. В таком состоянии полного насыщения находятся клетки водных растений, но его почти никогда не бывает у наземных растений, в виду наличия у них процесса транспирации. Часть осмотического потенциала клеток наземных растений, определяющая способность всасывать воду, остается неуравновешенной силой противодействия. Вследствие этого, тургорное давление, не достигает своей максимальной величины. Эта остаточная часть всасывающей способности, при погружении клетки в воду, вызовет некоторый приток воды в нее. Это будет продолжаться до тех пор, пока увеличивающееся тургорное давление не уравнивает осмотическое. Поэтому у наземных растений $P>T$ и $P=T+S$, где S – это величина сосущей силы, которая определяет поступление воды в клетку.

Из клубня картофеля вырезают 2 брусочка длиной 5см и шириной 5мм. Их следует нарезать поперек клубня из паренхимной ткани, не захватывая проводящих пучков. Данные измерений записывают в таблицу. Один брусочек помещается в пробирку с водой, другой в пробирку с 1М раствором поваренной соли или сахарозы. Через 1 час брусочки картофеля вынимаются. Обращается внимание на напряжение ткани (вялое или упругое). Повторно замеряются размеры брусочков.

Результаты занести в таблицу. Сделать выводы, объяснив изменения длины брусочков.

Варианты опыта	1М раствор NaCl	Вода
Исходные размеры брусочков, мм*мм		
Размеры брусочков через 1 час, мм*мм		
Тургор		
Напряженность ткани		

Контрольные вопросы.

1. Что такое тургорное давление?
2. Какие факторы могут снизить тургесцентность клеток?

3. Почему у наземных растений тургорное давление всегда меньше осмотического?

Лабораторная работа № 11.

Определение сосущей силы клеток по изменению размеров ткани (по Уршпрунгу)

Материалы и оборудование. Клубень картофеля или корнеплоды моркови, репы, NaCl, дистиллированная вода, нож или скальпель, препаровальная игла, фильтровальная бумага, пинцет, 8 пробирок, штатив для пробирок, линейка.

Ход работы. Сила, с которой клетка данный момент времени поглощает воду, называется сосущей силой. Она зависит от давления набухания биокаллоидов протопласта и клеточных оболочек, а также от осмотического и тургорного давлений клетки. В клетках, закончивших рост, с большой центральной вакуолью, сосущая сила в основном определяется осмотическими свойствами клеток.

Методы определения величины сосущей силы растительной ткани основаны на подборе внешнего раствора известной концентрации, осмотическое давление которого окажется соответствующим величине сосущей силы клеток ткани.

Осмотическое давление раствора также проявляется в свойстве его как бы присасывать воду через мембрану, и в этом смысле можно говорить о сосущей силе раствора. При погружении исследуемой ткани в раствор, сосущая сила которого больше сосущей силы в клетках ткани, длина полосок ткани уменьшается. Если сосущая сила в клетках больше сосущей силы раствора, то клетки поглощают воду из раствора, объем их увеличивается, и, следовательно, увеличивается длина полосок ткани. Длина полосок ткани останется без изменения в том растворе, сосущая сила которого равна сосущей силе клеток.

Приготовить по 10мл растворов хлористого натрия в следующих концентрациях: 1,0; 0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 и 0,1М, наливая в пробирки соответствующие количества 1М раствора соли и дистиллированной воды (например, для того чтобы приготовить 0,8М раствор необходимо в пробирку прилить 8мл 1М раствора соли и 2мл дистиллированной воды, для 0,7М раствора – 7мл 1М раствора и 3мл воды и т.д.). Тщательно перемешать растворы. Вырезать из клубня картофеля 8 одинаковых брусочков толщиной около 5мм, а длиной 30-40мм. Точно измеряют их длину с помощью линейки. Данные записывают в таблицу. По одному брусочку ткани погружают в каждый из приготовленных растворов. Через 0,5 – 1ч вынимают брусочки из пробирок и снова измеряют их длину. Данные всех измерений записывают в таблицу. Сосущая сила раствора, в котором длина полоски осталась без изменения, будет равна величине сосущей силы кле-

ток ткани. В данном случае сосущая сила клеток равна сосущей силе раствора и соответственно равна осмотическому давлению раствора ($S_{\text{кл}} = S_{\text{раствора}} = P_{\text{раствора}}$). Поэтому сосущую силу клеток можно рассчитать, пользуясь уравнением Вант-Гоффа.

Результаты эксперимента занести в таблицу. Вычислить величину сосущей силы клеток исследуемого объекта. Сделать выводы.

Концентрация раствора, М	1,0	0,8	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Первоначальная длина брусочков, мм								
Длина брусочков после пребывания в растворе, мм								
Изменение длины брусочков, мм								
Вид раствора								
Сосущая сила клеток, атм	$S = P = R \cdot C \cdot T \cdot i =$							

Контрольные вопросы.

1. За счет чего происходит изменение длины брусочков картофеля?
2. От чего зависит величина сосущей силы клеток?

Лабораторная работа № 12.

Определение сосущей силы клеток растительной ткани по изменению концентрации внешнего раствора. Метод струек (по В.С.Шардакову)

Материалы и оборудование. Листья какого-либо растения, 1М раствор NaCl, дистиллированная вода, раствор метиленовой сини, пробочное сверло, препаровальная игла, фильтровальная бумага, пинцет, 7 больших пробирок, 7 маленьких пробирок, пробки для пробирок, штатив для пробирок, мерные пипетки.

Ход работы. Метод струек основан на определении измерения концентрации раствора после пребывания в нем исследуемой растительной ткани. Уменьшение концентрации раствора происходит в случае отдачи воды тканью, если ее сосущая сила меньше сосущей силы раствора. Увеличение концентрации раствора показывает, что ткань поглощала из него воду, т.е. сосущая сила ткани оказалась больше сосущей силы раствора. Изменение концентрации раствора определяют по изменению его плотности.

Изменение плотности раствора под действием ткани определяют, сравнивая плотности этого и исходного раствора, в который ткань не помещали. После извлечения ткани раствор подкрашивают метиленовой синью и сравнивают с исходным раствором. Изменение плотности раствора в

сторону увеличения или уменьшения наглядно видно по тому, будет ли подкрашенная капля его погружаться или всплывать в контрольном растворе. Движение струйки вниз будет свидетельствовать об увеличении концентрации раствора. Движение струйки вверх указывает, что концентрация раствора уменьшается. Если же раствор не изменил концентрацию, то капля останется на том месте, в которое ее внесли пипеткой.

Используя 7 больших пробирок приготовить по 10мл растворов хлористого натрия в следующих концентрациях: 1,0; 0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3 и 0,2М, наливая в пробирки соответствующие количества 1М раствора соли и дистиллированной воды (например, для того чтобы приготовить 0,8М раствор необходимо в пробирку прилить 8мл 1М раствора соли и 2мл дистиллированной воды, для 0,7М раствора – 7мл 1М раствора и 3мл воды и т.д.). После тщательного перемешивания отлить в маленькие пробирки по 1мл приготовленных растворов. Оставшиеся в больших пробирках растворы, будут служить контролем.

Вырезать при помощи пробочного сверла диски из листьев, недалеко от средней жилки, не захватывая по возможности крупных жилок (для этого повернуть листья нижней стороной вверх). Разложить по 4-5 дисков в маленькие пробирки с растворами, закрыть пробками, с целью предотвращения испарения воды из растворов. Выдержать диски в растворах в течение 30-40 минут, время от времени, встряхивая пробирки и следя за тем, чтобы все диски были погружены в растворы.

По истечении указанного срока диски вынимают из пробирок и приступают к определению изменения удельного веса растворов, где до этого пребывали диски из листьев. Для этого растворы слегка подкрашивают метиленовой синью, внося в маленькие пробирки по небольшой капле красителя (много краски вносить нельзя, так как это может вызвать изменение плотности растворов). Содержимое пробирок встряхивают. После чего переходят к сравнению плотности каждого опытного раствора с плотностью контрольного.

Сравнение делают следующим образом. Капельной пипеткой с тонким оттянутым концом отбирают небольшую порцию подкрашенного опытного раствора. Кончик пипетки опускают в большую пробирку с соответствующим раствором (примерно до его середины). Медленно выпуская небольшую капельку (или струйку) окрашенного раствора, проследить за направлением движения струйки.

Результаты записать в таблицу. Направление движения окрашенной струйки показать стрелкой, а соотношение сосущей силы клеток и раствора знаком «>» или «<». Найти раствор, концентрация которого после пребывания в нем растительных тканей не изменилась. Определить осмотическое давление данного раствора и равную ему сосущую силу клеток, используя уравнение Вант-Гоффа. Сформулировать выводы.

Концентрация раствора, М	1,0	0,8	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2
Направление движения струйки							
Соотношение между сосущей силой клетки и раствора							
Вид раствора							
Сосущая сила клеток, атм							

Контрольные вопросы.

1. От чего зависит направление движения струйки?
2. На каком принципе основан метод струек?
3. Для чего при определении сосущей силы клеток используется раствор метиленовой сини?
4. Какие растворы называются изотоническими?

РАЗДЕЛ 2. ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЯ

Лабораторная работа № 13.

Определение интенсивности транспирации весовым методом

Материалы и оборудование. Листья герани, бегонии, примулы или гортензии, кипяченая вода, вазелиновое масло, нож или скальпель, конические колбы на 100мл, чашки Петри, фильтровальная бумага, весы, линейка, карандаш, миллиметровая бумага.

Ход работы. Процесс испарения воды с поверхности надземных частей растения называется транспирация. Количество воды, транспирированной растением, с единицы листовой поверхности за единицу времени называется интенсивностью транспирации. Величина ее зависит от внешних факторов, времени суток, и колеблется в пределах 15 – 250г/м²*ч. Весовой метод определения интенсивности транспирации основан на учете транспирированной воды по уменьшению веса растения за время опыта. Показателем способности растений регулировать транспирацию может служить величина относительной транспирации. Относительная транспирация – это отношение интенсивности транспирации с листа к интенсивности испарения воды со свободной водной поверхности при тех же условиях. Величина этого показателя обычно составляет 0,1 – 0,5, поднимаясь иногда до 1 и опускаясь до 0,01 и ниже, у некоторых хорошо защищенных от потери воды листьев.

Срезают лист любого растения с длинным черешком и помещают его в прибор Веска или в коническую колбу. Колбу заполняют кипяченной водой комнатной температуры. Черешок листа подрезают острым ножом под

водой (чтобы в проводящих пучках черешка не оказалось пузырьков воздуха). Колбу и лист тщательно протирают фильтровальной бумагой для удаления воды с их поверхности. Поверхность воды в колбе заливают вазелиновым маслом, слоем толщиной 2-3мм, чтобы избежать испарения со свободной водной поверхности. Колбу с листом взвешивают на весах с точностью до 0,01г. Через 45-60 минут осуществляют повторное взвешивание. Разница в весе покажет количество испаренной воды с данной листовой поверхности за данный промежуток времени. Результаты взвешиваний заносят в таблицу.

Пока идет процесс транспирации, рассчитывают площадь листовой пластинки. Для этого используют контуры листа, которые были нанесены на миллиметровую бумагу до начала постановки опыта.

Наряду с определением интенсивности транспирации в тех же условиях определяют испарение со свободной водной поверхности. Для этого в чашку Петри заливают небольшое количество кипяченной воды комнатной температуры, и так же определяют убыль в весе за время опыта. Результаты взвешиваний так же заносят в таблицу. Площадь чашки Петри определяют по формуле: $\pi d^2/4$.

Опыты по определению интенсивности транспирации проводят при разных условиях, например, на свету и в темноте, при высокой и низкой температуре, при высокой и низкой влажности. При этом можно использовать дополнительное освещение, холодильник, обогреватель воздуха, вентилятор и т.д. Но сравнение интенсивности транспирации в различных условиях можно проводить только на листьях одного и того же растения.

Кроме того, этот эксперимент можно поставить на разных растительных объектах, но в сходных условиях. Определения интенсивности транспирации, сделанные студентами в разных условиях и на разных объектах, сводят в общую таблицу.

Записать данные, полученные в опыте, в таблицу. Определить интенсивность транспирации и интенсивность испарения воды со свободной водной поверхности, используя следующую формулу: $I = n/(S*t)$, где n - это количество транспирированной (испаренной) воды (г), S - площадь листа (чашки Петри) (m^2), t - продолжительность опыта (ч). Определить величину относительной транспирации. Сделать выводы, объяснив результаты эксперимента.

Условия опыта	Варианты	Вес		Потеря в весе, г	Площадь, m^2	Интенсивность транспирации (испарения), $г/м^2*ч$	Относительная транспирация
		исходный, г	через 60 минут, г				
На свету	лист						
	чашка						

В темноте	лист						
	чашка						
При высокой температуре	лист						
	чашка						
При низкой температуре	лист						
	чашка						
При высокой влажности	лист						
	чашка						
При низкой влажности	лист						
	чашка						

Контрольные вопросы.

1. Почему в разных условиях интенсивность транспирации имеет разную величину?
2. Что такое относительная транспирация и от чего она зависит?
3. Почему, как правило, интенсивность транспирации бывает выше, чем величина интенсивности испарения со свободной водной поверхности в равных условиях?

Лабораторная работа № 14.

Определение выделенного листьями водяного пара с помощью хлорида кобальта (II)

Материалы и оборудование. Листья разных растений, 0,5М раствор хлорида кобальта (II), фильтровальная бумага, ножницы, линейка, спиртовка, стеклянные пластинки, зажимы.

Ход работы. Сухая фильтровальная бумага, пропитанная хлоридом кобальта (II), имеет голубой цвет, при поглощении влаги соль розовеет. Если к такой бумаге плотно приложить лист растения, то порозовение ее наступит тем быстрее, чем интенсивнее идет транспирация. Этим методом можно пользоваться при сравнении транспирации верхней и нижней сторон листа, листьев разных ярусов или листьев разных видов растений.

Из фильтровальной бумаги заблаговременно вырезают полоску размером примерно 9 x 24см и равномерно пропитывают ее 0,5М раствором хлорида кобальта (II). Эту бумагу высушивают на воздухе и складывают вдвое (в виде обложки). Перед самым началом опыта эту бумагу высушивают над пламенем спиртовки до голубого цвета. Испытуемый лист срезают с растения и вкладывают между половинками кобальтовой бумаги. Снаружи к бумаге с обеих сторон прикладывают по стеклянной пластинке, которые скрепляют зажимами, избегая сильного сдавливания листа. Замечают время постановки опыта. Следят за порозовением кобальтовой бумаги: скорость и степень изменения ее окраски служат показателем испарения воды листом. Результаты опыта хорошо заметны через 30-45 минут.

Результаты опыта занести в таблицу. Сформулировать вывод.

Растения	Время начала порозовения кобальтовой бумаги, мин	
	нижняя сторона листа	верхняя сторона листа
Герань		
Бегония		
Примула		

Контрольные вопросы.

1. С какой стороны листа идет более интенсивная транспирация? Почему?
2. Почему листья разного яруса имеют разную интенсивность транспирации?
3. От каких факторов зависит скорость транспирации?

Лабораторная работа № 15.

Учет интенсивности всасывания воды листьями в потометре.

Материалы и оборудование. Лист или побег любого растения, потометр или стеклянная банка, пробка с двумя отверстиями: одно – для листа, другое – для изогнутой трубки, горизонтальная градуированная стеклянная трубка, воск или пластилин, дистиллированная вода.

Ход работы. Потометр или стеклянную банку заполняют до краев водой и вставляют в него пробку с листом или побегом. При этом часть воды, вытесненная пробкой, пройдет в горизонтальную градуированную трубку и установится там, на определенном (исходном) уровне. Отмечают данный уровень. Между пробкой и водой в потометре не должно оставаться пузырьков воздуха. При хорошей герметичности прибора по мере всасывания воды листом, вода в горизонтальной трубке будет передвигаться в сторону сосуда. Результаты опыта хорошо заметны через 40-60 минут. По числу делений определяют количество всосавшейся воды.

Для вычисления интенсивности всасывания воды листом необходимо учесть площадь листа, время опыта и количество всосавшейся воды.

Данный метод можно использовать для определения интенсивности всасывания воды листом листьев разных ярусов или листьев разных видов растений.

Результаты опыта занести в таблицу. Вычислить интенсивность всасывания воды листьев разных видов растений. Сделать выводы.

Растения	Количество всосавшейся воды		Площадь листа, м ²	Интенсивность всасывания воды, г/м ² *ч
	в мл	в г		
Герань				
Бегония				

Контрольные вопросы.

1. Почему всасывание воды у разных видов растений происходит с разной интенсивностью?
2. Зависит ли величина интенсивности всасывания воды от интенсивности транспирации? Поясните свой ответ.

Лабораторная работа № 16.

Наблюдения за устьичными движениями под микроскопом.

Материалы и оборудование. Свежие листья традесканции, 5% раствор глицерина, лезвие бритвы, препаровальная игла, микроскоп, предметные стекла, фильтровальная бумага.

Ход работы. Газообмен между межклетниками листа и наружной атмосферой регулируется с помощью устьиц. Каждое устьице состоит из двух замыкающих клеток, у которых стенки, примыкающие к устьичной щели, сильно утолщены, тогда как наружные части остаются тонкими. Неравномерная толщина наружных и внутренних стенок приводит к тому, что при изменении тургора замыкающие клетки способны искривляться или распрямляться, открывая или закрывая при этом устьичную щель.

Раствор глицерина способен вызывать явление плазмолиза в замыкающих клетках устьица. При этом устьичные щели закрываются, вследствие отнятия воды от замыкающих клеток. По причине того, что раствор глицерина не дает стойкого плазмолиза, через некоторое время он начинает проникать через протоплазму в клеточный сок, вызывая деплазмолиз и открывание устьиц.

Ход работы. Перед началом эксперимента растение традесканции выдерживают на свету во влажной атмосфере для открытия устьиц. Готовят срез эпидермиса листа. Помещают его на предметное стекло в каплю 5% раствора глицерина и сразу начинают наблюдение под микроскопом. Рассматривают явление плазмолиза, как в замыкающих клетках, так и в остальных клетках эпидермиса. Наблюдают за состоянием устьичной щели.

Через 15-20 минут проводят повторное наблюдение препарата, замечают изменение состояния устьиц и клеток эпидермиса. После просмотра заменяют глицерин водой, для чего наносят рядом со срезом каплю воды, а с другой стороны оттягивают глицерин фильтровальной бумагой. При этом устьица открываются еще шире, так как вследствие проникновения глицерина в клеточный сок осмотическое давление в замыкающих клетках повышается.

Зарисовать устьица в открытом и закрытом состоянии. В выводах объяснить причины устьичных движений.

Контрольные вопросы.

1. Какие физиологические механизмы лежат в основе устьичных движений?

2. Как изменится состояние устьиц, если глицерин заменить на 1М раствор хлорида натрия? Поясните свой ответ.
3. Каково влияние внешних факторов (свет, темнота, движение воздуха, влажность) на состояние устьиц?

Лабораторная работа № 17.

Межклетники как связная система капиллярных ходов внутри тканей растения.

Материалы и оборудование. Листья аспидистры, стакан с водой, колба Бюнзена, резиновая пробка с отверстием, резиновая трубка, насос Камовского, скальпель, пластилин.

Ход работы. При отсасывании из колбы воздуха, благодаря уменьшению давления на срезанную поверхность черешка, возникает ток воздуха через устьица по межклетникам, и из среза начинает выделяться непрерывный ток пузырьков воздуха.

Срезают лист растения с длинным черешком. Вставляют его в отверстие резиновой пробки и герметизируют пластилином. Колбу Бюнзена наполовину заливают водой, присоединяют к насосу резиновой трубкой. Затем пробку с листом устанавливают в колбу, при этом необходимо срез листа обновить под водой. Начинают откачивание воздуха из колбы. Наблюдают за процессом выделения пузырьков воздуха.

Сделать выводы по результатам наблюдений.

Контрольные вопросы.

1. Почему при откачивании воздуха из колбы наблюдается выделение пузырьков воздуха?

Лабораторная работа № 18.

Влияние внешних условий на процесс гуттации.

Материалы и оборудование. 3-4 суточные проростки овса, ячменя или пшеницы, выращенные в темноте в глиняных горшочках (5шт.), стеклянные химические стаканы (3шт.), снег или лед, 10% раствор хлорида натрия, фильтровальная бумага, чашки (3шт.), часы.

Ход работы. Корневая система не только всасывает воду из почвы, но и активно нагнетает ее в стебель с определенной силой, называемой корневым давлением. Если количество нагнетаемой корнями воды больше количества воды, испаряемой надземными органами, то наблюдается явление гуттации.

Перед экспериментом проростки растений сильно поливают водой. После чего один горшочек с проростками ставят в чашку со льдом или снегом, второй – в чашку с водой комнатной температуры, при этом уровень воды должен быть ниже края горшочка, третий – в чашку с водой, на-

гретой до температуры 35⁰С, четвертый – поливают несколькими миллилитрами 10% раствора NaCl, а пятый горшочек оставляют на столе в качестве контроля. Кусочками фильтровальной бумаги удаляют имеющиеся на проростках капельки воды. После чего первые четыре горшочка с проростками закрывают стеклянными колпаками. Наблюдают за скоростью выделения капель воды на концах проростков. Опыты прodelывают в 2-3 повторностях.

Результаты эксперимента занести в таблицу. Сделать выводы.

Условия эксперимента	Скорость появления капель воды на концах проростков, кап/мин			Средняя скорость появления капель воды, кап/мин
	1	2	3	
Под колпаком, t=0 ⁰ С				
Под колпаком, t=20 ⁰ С				
Под колпаком, t=35 ⁰ С				
Без колпака, с NaCl				
Контроль (без колпака, t=20 ⁰ С)				

Контрольные вопросы.

1. Что такое гуттация и чем она отличается от транспирации?
2. Какие условия необходимы для появления гуттации?
3. Как влияет раствор NaCl на явление гуттации?
4. Чем гуттация отличается от росы?

Лабораторная работа № 19.

Поднятие воды в растения по сосудам.

Материалы и оборудование. Растение бальзамин, красные чернила, сосуд с водой, лезвие бритвы, препаровальная игла, скальпель, пипетка, предметные стекла, микроскоп.

Ход работы. В сосуд с водой, добавляют небольшое количество чернил. Берут олиственный ветку бальзамина, предварительно доведенную до состояния небольшого завядания, и помещают ее в сосуд с окрашенной водой. Обновляют срез побега под водой. Сосуд с веткой выставляют на солнечный свет примерно на 20-30 минут, до появления красной окраски у стебля, листовых черешков и жилок. Чем ярче будет освещение, тем быстрее наступает окрашивание, так как листовая поверхность нагревается и устанавливается сильный транспирационный ток жидкости.

Из окрашенного стебля, листового черешка и листа делают поперечные тонкие срезы и рассматривают их под микроскопом. Обнаруживают какая часть сосудистых пучков окрашена.

Зарисовать срезы, сделать выводы.

Контрольные вопросы.

1. Какие элементы стебля являются водопроводящими?
2. Почему не все ткани стебля и листа окрашиваются красителем?

РАЗДЕЛ 3. ФОТОСИНТЕЗ

Лабораторная работа № 20.

Извлечение пигментов зеленого листа

Материалы и оборудование. Свежие или сухие листья бегонии, крапивы, гортензии, подсолнечника, примулы, настурции и т.д., спирт этиловый, смесь бензина с бензолом 9:1, ацетон, CaCO_3 , кварцевый песок, фарфоровые ступки с пестиками, фильтровальная бумага, стеклянные колбы, воронки, пипетки, стеклянные палочки, ножницы, пробирки, штатив для пробирок.

Ход работы. Пигменты листа нерастворимы в воде, но хорошо растворимы в спирте, бензине и ацетоне. Чаще всего для извлечения пигментов используют спирт. Спиртовая вытяжка состоит из смеси четырех пигментов: двух зеленых – хлорофилла а и б и двух желтых – каротина и ксантофилла.

Готовят две вытяжки пигментов листа – спиртовую и бениново-бензольную. Первая используется для разделения пигментов по методу Крауса и изучения химических и оптических свойств пигментов, а вторая – для разделения пигментов методом хроматографической адсорбции.

Для получения спиртовой вытяжки берут 1-2г свежих листьев, измельчают их ножницами, отбросив крупные жилки и черешки и тщательно растирают в ступке, добавляя кварцевый песок и небольшими порциями (около 10мл) этилового спирта. Если в листе много органических кислот, то для их нейтрализации перед растиранием в ступку добавляют немного CaCO_3 . Затем полученную вытяжку фильтруют через складчатый фильтр в колбу.

Вторую вытяжку готовят на бензине с бензолом и ацетоном. Для этого 5г листьев растирают в ступке с кварцевым песком, добавляют 5мл смеси бензина с бензолом, 10мл ацетона и продолжают тщательно растирать. Затем содержимое ступки фильтруют, дают хорошо отстояться. Через 20-30 минут пипеткой осторожно отбирают верхний слой и переносят его в чистую сухую пробирку.

Сделать вывод, указав какие пигменты, содержат полученные Вами вытяжки.

Контрольные вопросы.

1. Какова роль пигментов в процессе фотосинтеза?

2. На чем основан метод извлечения пигментов из зеленого листа?

Лабораторная работа № 21.

Разделение пигментов методом бумажной хроматографии

Материалы и оборудование. Бензиново-бензольная вытяжка (см. лаб. работу № 16), стеклянная пластинка, фильтровальная бумага, линейка, карандаш, высокий цилиндр с крышкой, пипетки, пинцет.

Ход работы. Метод адсорбционной хроматографии впервые был предложен русским ученым М.С.Цветом. Этим методом можно разделить одновременно четыре пигмента. Сущность метода заключается в том, что раствор содержащий смесь пигментов пропускается 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 больше растворимость пигмента в растворителе и чем хуже он адсорбируется данным адсорбентом, тем быстрее он будет передвигаться, и тем дальше будет располагаться зона этого пигмента. В настоящее время для разделения пигментов широкое распространение получила хроматография на бумаге.

Фильтровальную бумагу нарезают полосками 5 x 25см. Полоска бумаги кладут на чистый кусок стекла и простым карандашом чертят на бумаге горизонтальную стартовую линию на расстоянии 4см от края.

Из ранее приготовленной концентрированной бензиново-бензольной вытяжки пигментов берут пипеткой небольшую каплю и наносят ее на стартовую линию фильтровальной бумаги. Подсушивают бумагу на воздухе и снова наносят каплю смеси пигментов. Эту операцию повторяют 5-6 раз.

В высокий цилиндр, в который налит растворитель (бензин с бензолом), опускают бумажную полоску стартовой линией вниз, чтобы бумага касалась растворителя, но растворитель не доходил до стартовой линии. Закрывают цилиндр крышкой. Через 10-15 минут растворитель поднимется вверх по бумаге, увлекая за собой смесь пигментов, которые начнут разделяться приблизительно на расстоянии 5-10см от стартовой линии.

Пигменты распределяются следующим образом: первым снизу будет адсорбироваться хлорофилл b желто-зеленого цвета, затем сине-зеленая зона хлорофилла a, выше – пигмент ксантофилл золотисто-желтого цвета. Каротин, который очень быстро движется вместе с растворителем, расположится на верху полоски бумаги в виде желто-оранжевого пятна.

Зарисовать полученную хроматограмму и сделать вывод о причинах разделения пигментов на бумаге.

Контрольные вопросы.

1. На чем основан метод адсорбционной хроматографии?

2. Почему пигменты на хроматограмме распределяются послойно?

Лабораторная работа № 22.

Разделение пигментов методом Крауса с отделением каротина

Материалы и оборудование. Спиртовая вытяжка пигментов (см. лаб. работу № 16), стаканчик с водой, пипетка, этиловый спирт, бензин, 20% раствор гидроксида калия или натрия, пробирки, штатив для пробирок.

Ход работы. В пробирку приливают 2-3мл спиртового раствора пигментов, добавляют 4-5мл бензина и 2-3 капли воды (для лучшего отделения спирта от бензина). Пробирку хорошо встряхивают и дают отстояться. Если разделение пигментов будет недостаточно четким, добавляют бензин и продолжают взбалтывание. Помутнение нижнего слоя (от избытка воды) можно устранить, добавив немного спирта. Через 2-3 минуты происходит расслаивание жидкости: в верхний, бензиновый слой переходят оба хлорофилла и каротин, в нижнем, спиртовом слое остается желтый пигмент – ксантофилл, так как он лучше растворим в спирте.

Для отделения каротина от хлорофилла верхний бензиновый слой отбирают с помощью пипетки и переносят в чистую пробирку. А нижний слой с ксантофиллом убирают в сторону для проведения опыта «Оптические свойства пигментов».

В отобранной зеленой вытяжке каротин незаметен, так как его маскирует хлорофилл, преобладающий количественно. В пробирку добавляют 2мл этилового спирта и несколько капель 20% раствора щелочи и сильно встряхивают содержимое. При взаимодействии щелочи с хлорофиллом происходит его омыление и образуется щелочная соль хлорофиллина, которая легко переходит из бензина в спирт. В результате в пробирке обнаруживаются два разноокрашенных слоя. Верхний, бензиновый слой желтого цвета содержит каротин, а нижний, спиртовой зеленого цвета – щелочную соль хлорофиллина. Бензиновый слой с каротином отбирают с помощью пипетки и переносят в чистую пробирку, которую также убирают в сторону для проведения опыта «Оптические свойства пигментов».

Зарисовать две пробирки: одну с ксантофиллом, а вторую с разделенными пигментами – и сделать соответствующие подписи. Сформулировать вывод относительно различной растворимости пигментов в спирте и бензине.

Контрольные вопросы.

1. На чем основан метод Крауса?
2. Какие пигменты зеленого листа растворяются в спирте, а какие в бензине?

Лабораторная работа № 23.

Химические свойства пигментов

Материалы и оборудование. Спиртовая вытяжка пигментов (см. лаб. работу № 16), 20% раствор гидроксида калия или натрия, 10% раствор соляной кислоты, ацетат цинка или ацетат меди, пробирки, штативы для пробирок, пипетки, спиртовка.

Ход работы. Опыт № 1. Получение щелочной соли хлорофиллина. Омыление хлорофилла щелочью

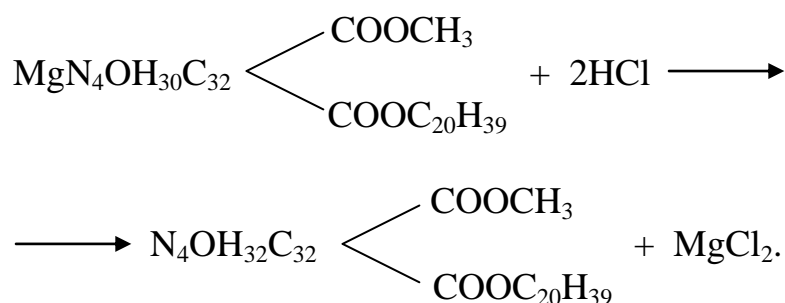
Щелочная соль хлорофиллина, как и хлорофилл, имеет зеленую окраску. В данной работе образование щелочной соли хлорофиллина обнаруживают по признаку лучшей растворимости ее в спирте, чем в бензине: после омыления хлорофилла, находящегося в бензиновом слое вытяжки, соль хлорофиллина, перейдет в спиртовой слой и окрасит его в зеленый цвет.

В пробирку с 2-3мл спиртовой вытяжки добавляют 4-5 капель 20% раствора щелочи. Содержимое пробирки хорошо взбалтывают. Затем в эту же пробирку добавляют 2-3мл бензина и 1 каплю воды. Закрывают пробирку пробкой и сильно встряхивают 15-20сек. Дают смеси жидкостей расслоиться и обнаруживают переход продуктов омыления хлорофилла в нижний, спиртовой слой, который будет иметь зеленый цвет.

Сделать рисунок. Записать реакцию омыления хлорофилла, в результате которой происходит отщепление спиртов – метилового и фитилового, а двухосновная кислота хлорофиллин дает соль. Сформулировать вывод.

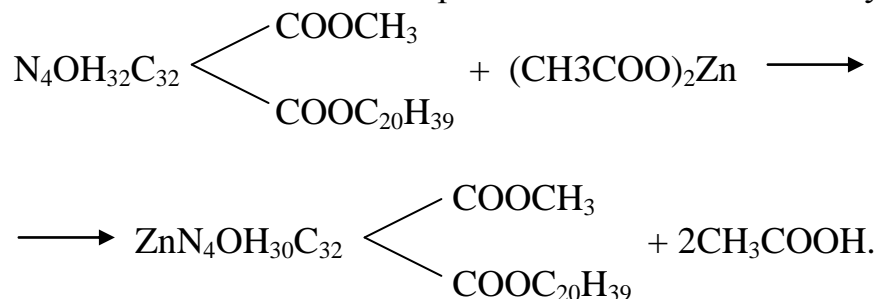
Опыт № 2. Получение феофитина и металлозамещенного хлорофилла

Берут три пробирки. В каждую из пробирок приливают по 2мл спиртовой вытяжки. Одну пробирку с пигментом оставляют для контроля. В двух других получают феофитин. Для этого добавляют в пробирки по 2-3 капли 10% раствора соляной кислоты. При этом окраска вытяжки становится буровато-оливковой – хлорофилл превращается в феофитин:



Одну пробирку с феофитином оставляют для сравнения, а в другой феофитин переводят в металлозамещенный хлорофилл. Для этого в пробирку добавляют 2-3 кристаллика уксуснокислого цинка или меди и слегка

подогревают. Зеленый цвет пигмента восстанавливается, что свидетельствует о восстановлении металлорганической связи в молекуле хлорофилла:



Все пробирки сравнивают по цвету, закрывают пробками, снабжают этикетками и оставляют в штативе на свету. Через неделю сравнивают стойкость хлорофилла и металлозамещенного хлорофилла, сравнивая их цвет.

Зарисовать пробирки с полученными растворами, сделать соответствующие к ним надписи. Записать реакции получения феофитина и металлозамещенного хлорофилла. Сделать выводы.

Контрольные вопросы.

1. Какие химические свойства пигментов Вы знаете?
2. Почему при добавлении щелочи соль хлорофиллиновой кислоты переходит в спиртовую фракцию?
3. Какова будет окраска спиртового и бензинового слоя, если к вытяжке пигментов добавить вдвое больший объем бензина?
4. Какова будет окраска спиртового и бензинового слоя, если к вытяжке пигментов добавить небольшое количество бензина?
5. Как доказать, что окраска хлорофилла зависит от наличия металла в порфириновом ядре его молекулы?

Лабораторная работа № 24.

Оптические свойства пигментов

Материалы и оборудование. Спиртовая вытяжка пигментов зеленого листа (см. лаб. работу № 16), раствор ксантофилла, полученный при разделении пигментов по Краусу (см. лаб. работу № 18), раствор каротина, полученный при разделении пигментов по Краусу или приготовленный из корнеплода свежей моркови, концентрированный раствор пигментов, этиловый спирт, спектроскоп, плоские кюветы, пипетки, цветные карандаши.

Ход работы. Основное свойство хлорофилла – это его способность поглощать световую энергию, причем поглощение света является не сплошным, а избирательным. В этом можно убедиться, пропуская белый свет через раствор хлорофилла, а затем разлагая его при помощи призмы. При этом отдельные участки спектра окажутся поглощенными, и на их

месте будут видны темные полосы. Полученный спектр является спектром поглощения.

Хлорофилл обладает и другим оптическим свойством – флюоресценцией, возникающей при избирательном поглощении световых лучей. При поглощении света часть молекул хлорофилла переходит в энергетически возбужденное состояние, которое является неустойчивым. Переход молекул хлорофилла из возбужденного состояния в основное сопровождается излучением световой энергии. Это явление флюоресценции является признаком оптической активности вещества. Хлорофилл имеет красную флюоресценцию.

В живых листьях содержание хлорофилла может меняться в зависимости от условий произрастания. При недостатке освещения концентрация хлорофилла в листьях обычно повышается, что дает возможность растениям увеличивать количество поглощаемого света.

Полосы поглощения желтых пигментов лежат в сине-фиолетовой части спектра.

Опыт №1. Флюоресценция хлорофилла. В пробирку наливают 4-5мл спиртовой вытяжки пигментов листа, в которой преобладает хлорофилл, и рассматривают ее поочередно в проходящих и отраженных лучах. В первом случае пробирку с вытяжкой располагают между глазом и источником света, а во втором случае – сбоку от источника света. В отраженных лучах будет заметна красная флюоресценция хлорофилла.

Зарисовать окраску спиртовой вытяжки пигментов в проходящих и отраженных лучах света. Сделать вывод.

Опыт №2. Спектры поглощения пигментов листа. Налаживают освещение щели и шкалы спектроскопа, получают четкое изображение полного спектра, совпадающее со шкалой. Затем наливают спиртовой раствор пигментов в кювету и устанавливают его перед щелью спектроскопа. Рассматривают спектр поглощения. Полосы поглощения будут в красной и сине-фиолетовой части спектра. Рассматривают спектры поглощения ксантофилла и каротина.

Раствор каротина можно также получить из корнеплода моркови. Для этого корнеплод моркови натирают на терке, заливают небольшим количеством бензина и через несколько часов кашицу отфильтровывают.

Цветными карандашами зарисовать полный спектр видимого света, спектры поглощения хлорофилла, ксантофилла и каротина. Полосы поглощения на рисунке заштриховать черным карандашом. Сделать выводы.

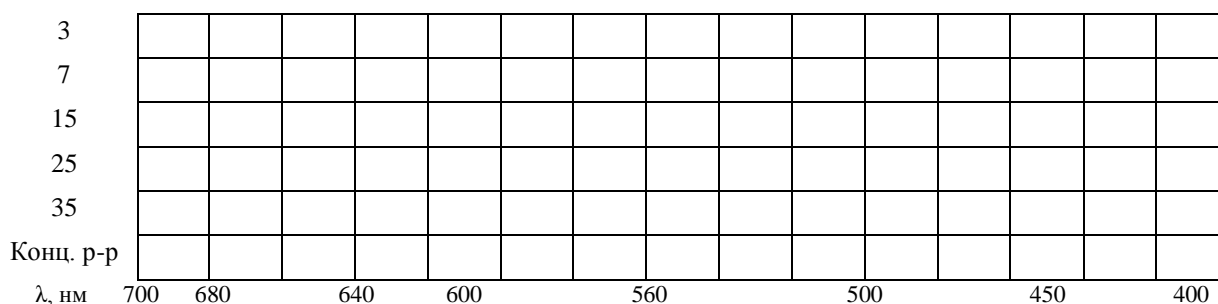
Опыт №3. Получение спектрограммы хлорофилла. Для этой работы заранее готовят очень концентрированный раствор пигментов. Его получают из сухих растертых листьев (лучше крапивы). Растертые листья заливают небольшим количеством этилового спирта. Через 10-15 часов концентрированный раствор пигментов фильтруют через складчатый

фильтр. Раствор должен быть такой концентрацией, чтобы в проходящем свете он имел темно-зеленую окраску.

В пять плоских кювет наливают по 3-5мл чистого этилового спирта. Затем в каждую добавляют по несколько капель концентрированного раствора пигментов, последовательно увеличивая концентрацию. В первую наливают 3 капли, во вторую – 7, в третью – 15, в четвертую – 25 и в пятую – 35 капель. В шестую кювету наливают концентрированный раствор пигментов. Содержимое кювет хорошо перемешивают. С помощью спектроскопа просматривают спектры поглощения хлорофилла.

Зарисовать спектры поглощения хлорофилла, располагая один под другим. С левой стороны спектрограммы против каждого спектра указывают количество капель вытяжки в растворе. На спектрах точно показывают полосы поглощения, заштриховывая их черным карандашом в зоне соответствующих длин волн. Сделать выводы о характере поглощения лучей хлорофиллом в зависимости от концентрации его спиртового раствора.

Спектрограмма хлорофилла



Контрольные вопросы.

1. Почему хлорофилл имеет красную флюоресценцию?
2. Все ли пигменты зеленого листа способны флюоресцировать?
3. Какие особенности химического строения молекулы хлорофилла позволяют поглощать этому пигменту красную и сине-фиолетовую часть спектра?
4. Чем отличаются друг о друга спектры поглощения хлорофилла, ксантофилла и каротина?
5. Почему спектр поглощения хлорофилла зависит от его концентрации?

Лабораторная работа № 25.

Фотосенсибилизирующее действие хлорофилла на реакцию переноса водорода (по Гуревичу)

Материалы и оборудование. Метиловый красный (насыщенный раствор в этиловом спирте), спиртовая вытяжка пигментов листа (см. лаб

работу № 16), аскорбиновая кислота (кристаллическая), этиловый спирт, пипетки, 4 пробирки, штатив для пробирок, черная бумага, электрическая лампа.

Ход работы. Хлорофилл является фотосенсибилизатором, т.е. способен переносить поглощенную энергию солнечного света на хлорофилловую ловушку. Это происходит в естественных условиях, а в искусственных – может переносить водород. Фотосенсибилизирующая роль хлорофилла может быть продемонстрирована в модельных реакциях. Для этого в качестве источника водорода берут аскорбиновую кислоту, а акцептора – метиловый красный, который присоединяя водород, восстанавливается в неокрашенное лейкосоединение. Аскорбиновая кислота окисляется в дегидроаскорбиновую кислоту. Эту реакцию легко наблюдать, поскольку она связана с обесцвечиванием метилового красного; окраска же хлорофилла остается без изменений.

Берут 4 пробирки: в первые три, наливают по 5мл спиртовой вытяжки хлорофилла, в четвертую – 5мл этилового спирта. В первую, вторую, четвертую пробирки вносят по 50мг кристаллической аскорбиновой кислоты и несколько раз хорошо встряхивают растворы. Во все пробирки с хлорофиллом прибавляют по каплям насыщенный спиртовой раствор метилового красного до тех пор, пока зеленая окраска не перейдет в красно-бурую. В четвертой пробирке окраску раствора доводят с помощью индикатора до ярко-розовой. Вторую пробирку закрывают чехлом из черной бумаги, а затем пробирки ставят в штатив и освещают электрической лампой, расположив на расстоянии примерно 15см от штатива на 10-15 минут.

Результаты опыта записать в таблицу. Сформулировать вывод с объяснением результатов опыта в каждой пробирке.

№	Условия опыта	Состав растворов				Результаты
		Хлорофилл, мл	Этиловый спирт, мл	Аскорбиновая кислота, мг	Раствор метилового красного, мл	
1	свет	5	-	50	+	
2	темнота	5	-	50	+	
3	свет	5	-	-	+	
4	свет	-	5	50	+	

Контрольные вопросы.

1. На чем основано фотосенсибилизирующее действие хлорофилла?
2. Сочетание, каких условий и факторов, данного опыта, является доказательством фотосенсибилизирующей активности хлорофилла?