

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
ПАВЛОДАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

Е.Т. Ержанов

ПРАКТИКУМ ПО ФИЗИОЛОГИИ  
РАСТЕНИЙ И БИОХИМИИ

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ

Павлодар  
2016

УДК 581.19(075)  
ББК 28.57я7  
Е 69

Рекомендовано к изданию ученым советом  
Павлодарского государственного педагогического института

**Рецензенты:**

**Сирмаха Людмила Николаевна**, кандидат химических наук, профессор кафедры географии и химии ПГПИ;

**Каденова Ася Беисовна**, кандидат биологических наук, доцент ВАК, профессор ПГУ им. С. Торайгырова, факультет химических технологий и естествознания ПГУ им. С. Торайгырова.

**Ержанов Е.Т.**

Е 69 **Практикум по физиологии растений и биохимии:** учебно-методическое пособие / Е.Т. Ержанов. – Павлодар: ПГПИ, 2016. – 48 с.

ISBN 978-601-267-404-0

Данное пособие ориентировано большей частью на оказание методической помощи при выполнении опытов и наблюдений по некоторым темам ботаники и общей биологии, изучаемым в средней школе на уроках, а также на факультативе по физиологии растений и биохимии, во время кружковой и самостоятельной работы учащихся.

Практикум по физиологии растений и биохимии предназначен для студентов-биологов педагогических специальностей в помощь для выполнения курсовых и дипломных работ. Информация по приготовлению реактивов позволит интенсифицировать вспомогательные работы студентов, магистрантов, аспирантов, докторов PhD, научных сотрудников научно-исследовательских лабораторий специальностей «Биохимия» и «Физиология растений», «Агрохимия и почвоведение», «Микробиология и цитология». Практикум может быть использован студентами при прохождении практики в школе и выпускниками кафедры общей биологии после окончания вуза при работе учителями биологии в школе.

ISBN 978-601-267-404-0

© Е.Т. Ержанов, 2016.

© Павлодарский государственный педагогический институт, 2016.

## ВВЕДЕНИЕ

Практикум по физиологии растений и биохимии может быть использован студентами-биологами педагогических специальностей в учебном процессе при выполнении курсовых и дипломных работ. Информация по приготовлению реактивов позволит интенсифицировать вспомогательные работы студентов, магистрантов, аспирантов, докторов PhD, научных сотрудников научно-исследовательских лабораторий специальностей «Биохимия» и «Физиология растений», «Агрохимия и почвоведение», «Микробиология и цитология». Пособие может быть использовано студентами при прохождении практики в школе и выпускниками кафедры общей биологии после окончания Павлодарского государственного педагогического института (ПГПИ) при работе учителями биологии в школе.

Студент-биолог должен помнить, что учитель биологии, ведущий урок, не должен ограничиваться простым изложением теоретического материала. Это не дает полного эффекта для изучения сущности явлений живой природы.

Такие вопросы по физиологии растений, как питание растений, фотосинтез, дыхание, обмен веществ, такие темы по биохимии, как белки, жиры, углеводы, необходимо раскрывать не только с помощью объяснения и демонстрации наглядных пособий, презентаций, но и в ходе лабораторных опытов, наблюдений, описаний их результатов, составления таблиц, выводов. Если ученик сам принимает участие в постановке опыта, наблюдает за живыми организмами, стремится осмыслить те или иные процессы жизнедеятельности, у него появляется интерес к изучаемому предмету, что активизирует усвоение учебного материала.

Цель данного пособия – оказать методическую помощь в выполнении опытов и наблюдений по некоторым темам ботаники, общей биологии, изучаемым в средней школе на уроках, а также на факультативе по физиологии растений, во время кружковой и самостоятельной работы учащихся.

Проводя опыты и наблюдения над растениями, студенты ПГПИ усваивают конкретные факты, лежащие в основе процессов жизнедеятельности, выясняют причины тех или иных явлений, учатся делать правильные выводы и обобщения, получают необходимые навыки и умения, овладевают методикой исследования жизни растений. В ходе работы студенты учатся: 1) составлять план; 2) закладывать опыт; 3) устанавливать разницу между контролем и опытом; 4) проводить ежедневные наблюдения; 5) вести записи данных, составлять таблицы, расчеты, зарисовывать наблюдаемые изменения в клетке; 6) делать выводы по результатам опыта.

Длительные наблюдения и опыты можно проводить с учениками на пришкольном участке, в теплице или в биологическом кабинете. В этом случае учащиеся приобретают навыки ухода за растениями. Те работы, которые не требуют длительной постановки, можно провести непосредственно в лаборатории, а затем на уроках биологии.

## ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ

1. При работе в химической лаборатории всегда нужно помнить, что многие реактивы ядовиты, огнеопасны и взрывоопасны. Поэтому нужно соблюдать чистоту, быть очень аккуратным и внимательным. Необходимо, чтобы вещества не попали на одежду и кожу. Нельзя тереть руками глаза и лицо, запрещается кушать в период работы. Перед едой и после работы необходимо мыть руки.

### **а) Правила работы с особо опасными и токсичными веществами**

1. При всех работах с особо опасными веществами (металлическим натрием и калием), взрывчатыми смесями под низким давлением (перегонка в вакууме, откачивании эксикатора) или под повышенным давлением обязательно надевать защитные очки или маску.

2. Особую осторожность следует соблюдать при работе со следующими веществами: цианистым калием, цианистым натрием, диметилсульфатом, хлоргидридами кислот, хлором, бромом, фосгеном и двуокисью азота.

Если их применять в крупных размерах, то следует работать в отдельном помещении, работу с небольшими количествами необходимо проводить в лаборатории с хорошо функционирующим вытяжным шкафом. Особую осторожность соблюдать при работе с амидом натрия. Давно хранившийся амид натрия может оказаться взрывоопасным.

**Метиловый спирт.** Весьма ядовит и опасен. Отравление наступает при вдыхании паров метилового спирта, при всасывании и особенно при приеме вовнутрь. Небольшое количество метилового спирта (10–15 г), принятое вовнутрь, вызывает тяжелые отравления, ведущие к слепоте и даже смерти.

**Бензол.** Сильный яд. Вдыхая пары бензола, человек может отравиться и даже умереть. Попадая на кожу, бензол всасывается через поры и может вызвать отравление. Бензол является огнеопасным веществом, а его пары могут образовывать взрывчатую смесь с воздухом.

**Хлороформ.** Пары действуют, как наркотик. Соприкосновение хлороформа и натрия может вызвать взрыв.

**Четыреххлористый углерод.** Токсичен. Он вызывает головные боли, потерю сознания, судороги. При соприкосновении четыреххлористого углерода с натрием может произойти взрыв.

### **б) Правила работы с огне- и взрывоопасными веществами**

1. Легковоспламеняющиеся жидкости необходимо хранить в лабораторных металлических шкафах в склянках с толстыми стенками и притертыми пробками.

Органические растворители (диоксин, эфир и т.д.) перед использованием необходимо проверять на наличие в них примесей перекиси.

2. Общий запас одновременно хранящихся в лаборатории легковоспламеняющихся жидкостей не может превышать суточную норму. Легко-

воспламеняющиеся жидкости должны находиться только в необходимых для работы количествах.

3. Все работы с легковоспламеняющимися жидкостями следует проводить при работающей вентиляции в вытяжном шкафу и при соблюдении всех мер противопожарной безопасности. Перегонка легковоспламеняющихся жидкостей допускается на электроплитах с использованием водяных бань. При зашивании ампул с легковоспламеняющимися жидкостями для охлаждения пользоваться сухим и обычным льдом.

4. Категорически запрещается выливать легковоспламеняющиеся жидкости в канализацию, а также в ведра, банки для мусора, во избежание пожара от случайно брошенной спички. Обработанные легковоспламеняющиеся жидкости выливают в стеклянные сосуды.

Перед разборкой приборов, в которых содержатся воспламеняющиеся вещества, следует потушить горелки, находящиеся поблизости.

5. Во всех лабораториях и практикумах, где работают с легковоспламеняющимися жидкостями, необходимо иметь все средства противопожарной защиты (огнетушители, асбестовые одеяла, песок).

6. Необходимо помнить, что многие вещества легко воспламеняются при взаимодействии с восстановителями (перекись водорода, перекиси металлов, озониды, хлораты, перхлораты, нитриты).

Следует помнить, что водород в смеси с воздухом образует взрывчатую смесь.

#### **в) Работа с металлической ртутью**

1. Пары ртути медленно вызывают отравление. Предельно допустимая концентрация (ПДК) воздушных паров ртути в рабочих помещениях составляет 0,01 мг/кг<sup>3</sup>.

Категорически запрещается хранить ртуть в открытом сосуде.

2. Все ртутные приборы и аппараты должны быть сконцентрированы в одном помещении. Работы с небольшими ртутными аппаратами и приборами, где ртуть хорошо изолирована, могут проводиться в лабораториях на специально подготовленных и оборудованных столах. Аппараты и приборы необходимо устанавливать на окрашенных или эмалированных противнях.

3. Разлитую ртуть, пусть и в небольшом количестве, требуется тщательно собрать и место пролива ртути обдать 20% раствором хлорного железа. Собирать ртуть нужно с помощью медной амальгированной пластинки. Капли ртути вытряхивают в сосуд с водой.

4. Категорически нельзя сливать ртуть в канализацию, сбрасывать в мусоропровод. Отходы ртути собирают в банку с водой, а затем сдают на химический склад на переработку.

5. В помещениях, где работают с ртутью, не реже 2-х раз в год производить анализ воздуха на содержание в нем паров ртути.

**г) Правила безопасной эксплуатации баллонов и сосудов, работающих под давлением и под вакуумом.**

1. При работе с баллонами, содержащими сжатые газы и жидкости: водород, кислород, хлор, ацетилен, метан, аммиак, необходимо соблюдать особую осторожность. Опасность работы определяется возможным взрывом, пожаром или отравлением.

Причиной взрыва может быть:

- увеличение давления баллонов под влиянием тепла;
- удар о твердое тело;
- для кислородных баллонов загрязнение арматуры баллонов всевозможными органическими веществами.

2. Устанавливать баллоны разрешается только в специальных стойках, исключающих падение баллонов.

3. Переставляя баллоны в лаборатории, необходимо их перекачивать вручную, очень осторожно и в наклонном положении. Перенос баллонов в другое помещение требует использования тележки. Переносить баллоны на плечах запрещается.

4. Баллоны должны снабжаться на выходе газа редукторами или коническими вентилями понижения давления.

5. Категорически запрещается самостоятельно исправлять вентиль.

6. Запрещается пользоваться редукторами с неисправными манометрами.

7. Запрещается подтягивать ключом резьбовые соединения на венти-ле, редукторе, трубопроводе, находящиеся под давлением.

За исправным состоянием редуктора и конических вентилях в лабора-тории должно следить специальное лицо.

Вентиль баллонов открывать и закрывать руками медленно и осто-рожно, избегайте по возможности применение ключей. Ни в коем случае не присоединяйте баллон к прибору (или даже к системе промывалок) до того, как баллон открыт и установлен нужный ток газа.

8. Приступая к работе со сжатыми газами, необходимо:

а) проверить правильность надписей на баллоне, убедиться, что в бал-лоне находится именно тот газ, с которым предстоит работать;

б) убедиться в прочности закрепления баллона в стойке;

в) в присутствии ответственного лица проверить исправность реду-кционного вентиля;

г) проверить цельность и надежность трубопроводов;

д) если газ горюч и им наполняют газометр, устранить сначала все ис-точники огня в лаборатории (потушить горелку, выключить электрические щитки и т.д.) и включить тягу.

9. При работе с любыми стеклянными приборами, находящимися под вакуумом, обязательно одевать очки или защитную маску. Это относится к перегонкам в вакууме, откачиванию вакуумэкдикаторов, установок для ис-следования.

10. Установки, работающие под вакуумом, должны быть ограждены, вакуумэксикаторы – покрыты защитными колпаками или чехлами из плотного материала.

## ПРИНЦИПЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАСТВОРОВ

Концентрация растворов выражается в массовых или весовых, а также объемных процентах, в содержащихся в единице объема раствора молях, молярностью или титром.

Выражаемая в молях в 1 л раствора, но не в 1 л растворителя, концентрация раствора называется молярностью. Раствор, содержащий в 1 л 1 М растворенного вещества, называется молярным.

Образцовые или титрованные растворы – растворы с точно известным содержанием растворенного вещества. Концентрацию в этом случае принято выражать в единицах, позволяющих рассчитывать количество грамм-молекул в единице объема.

ТИТРОМ называют содержание вещества в граммах в 1 л раствора.

Таблица 1. Важнейшие концентрированные реактивы

Формула	Молекулярный вес	Удельный вес	Молярность	Граммов в 100 г раствора	Граммов в 100 мл раствора
HCl	36,5	1,19	12,7	37,9	41,5
HNO <sub>3</sub>	63,0	1,39	13,6	62,4	86,2
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	98,0	1,84	18,2	96,0	177,0
NaN <sub>3</sub>	17,0	0,90	13,4	25,0	22,8
NaOH	40,0	1,33	11,0	33,0	43,9

## Буферные растворы

Буферными растворами называются растворы, обладающие свойством противодействовать изменению водородного показателя при разведении и при прибавлении к ним небольших количеств сильных кислот и щелочей.

Большинство биологических жидкостей имеет нейтральную, слабокислую или слабощелочную реакцию среды и обладает буферным действием. Поддержание водородного показателя на определенном уровне имеет большое физиологическое значение: для течения почти всех биохимических процессов необходимо постоянство реакции среды, изменение рН среды резко меняет интенсивность и направление процессов обмена веществ.

Буферным действием обладают смеси слабых кислот или оснований с их солями.

## Реактивы, используемые при изучении физиологии клетки

При приготовлении препарата необходимо помнить, что живые клетки могут легко повреждаться. Наименее поврежденными будут клетки, которые можно легко отделить от растения. Извлеченные клетки помещают в каплю воды на предметное стекло и накрывают покровным стеклом.

Для приготовления препаратов живых клеток и тканей лучше всего использовать водопроводную воду, выдержанную в открытой посуде в течение 6–12 часов для обесхлорирования.

### ЭЛЕМЕНТЫ ЦИТОХИМИИ

Обнаружение ионов в клетках, срезах тканей и в золе растений.

**Нитриты.** Темно-синее окрашивание среза, обработанного раствором дифениламина в концентрированной серной кислоте.

**Фосфаты.** Смешивают равные объемы 10%-ного молибденово-кислого аммония и концентрированной азотной кислоты и при необходимости фильтруют. Срез помещают в большую каплю реактива, накрывают покровным стеклом и прогревают 20–30 мин при 40°C.

Под микроскопом обнаруживают ярко-желтые округленно-крестообразные и звездообразные кристаллы. Та же реакция происходит с золой или азотнокислой вытяжкой из золы.

**Хлориды.** На срезах выпадает осадок хлористого серебра при обработке  $\text{AgNO}_3$ . Вводя в реакцию аммиак, можно замедлить осаждение и получить белые кристаллы в виде октаэдров, удлинённых овалов и т.д., которые со временем чернеют и становятся более заметными. Азотнокислая вытяжка из золы при добавлении  $\text{AgNO}_3$  образует хлопьевидный осадок.

**Йод** (в морских водорослях). Срезы обрабатывают несколькими каплями 20%-ного  $\text{KNO}_2$  5%-ной  $\text{HCl}$ , добавляют немного суспензии картофельного крахмала и накрывают стеклом. Зерна крахмала постепенно синеют.

**Карбонаты.** Срез помещают в каплю соляной или азотной кислоты, наблюдают выделение мелких пузырьков углекислоты. К навеске золы приливают избыток соляной или азотной кислоты. Вытесненная  $\text{CO}_2$  количественно улавливается титрованием раствора щелочи.

**Калий.** Кобальт-нитрит натрия растворяют до насыщения в 10%-ной уксусной кислоте. Через несколько минут срез с каплей реактива образует многочисленные желтые кристаллики, видимые под микроскопом.

**Аммоний.** Срез помещают на дно лунки предметного стекла или на дно часового стекла, добавляют каплю 10%-ного  $\text{NaOH}$ . В висячей капле из реактива Несслера выделяющийся аммиак образует желтую (коричневую) окраску. Вместо реактива Несслера можно использовать 10%-ную

$\text{HJO}_3$ , в которой образуются темные балкообразные, часто перекрещивающиеся кристаллы йодистого аммония.

**Магний.** В атмосферу, насыщенную аммиаком, помещают срезы в капле  $\text{NaNH}_2\text{PO}_4$ . Через 15 мин образуются кристаллы  $\text{MgNH}_4\text{PO}_4$ .

Кроме того, можно помещать срезы в смесь равных частей 15%-ного уротропина (гексамегилентерамин) и 10%-ной красной кровяной соли. Через несколько минут образуются плоские квадратные кристаллы комплексной соли Mg. Появляющиеся одновременно кристаллы соли Ca имеют форму параллелограммов и балочек.

**Кальций.** Не слишком тонкие срезы помещают в 10%-ную  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Карбонат кальция растворяется с образованием пузырьков углекислого газа, оксалат – без пузырьков. Сернокислый кальций (гипс) выпадает в виде игольчатых, призматических кристаллов, иногда двойных, имеющих форму ласточкина хвоста. Кислую вытяжку из золы нейтрализуют аммиаком, подогревают и смешивают с избытком кипящего раствора щавелевокислого аммония. Выпадает осадок оксалата кальция.

**Железо.** Срезы с каплей 1%-ной желтой кровяной соли и 5%-ной  $\text{HCl}$  образуют синеватую окраску (берлинскую лазурь). Приготовляя срезы и реактивы, следует избегать контакта с железными (стальными) инструментами и посудой. Солянокислая или азотнокислая вытяжка из золы при добавлении раствора роданистого калия образует красное соединение, которое при встряхивании с эфиром переходит в верхний эфирный слой.

**Алюминий.** Зола растворяют в разбавленной уксусной кислоте и добавляют несколько капель 1%-ного спиртового раствора Морина. В ультрафиолете наблюдается ясная желто-зеленая флуоресценция.

**Марганец.** В петле из платиновой проволоки сплавляют на пламени спиртовки смесь из равных частей соды, калийной селитры и золы. Синевато-зеленая окраска, переходящая в фиолетовую при погружении в разбавленную кислоту, указывает на наличие марганца.

## ФИКСАЦИЯ

Основная цель фиксации – сохранить объект в таком состоянии, какое он имеет в живом организме. Один и тот же фиксатор не одинаково хорошо фиксирует различные ткани и органы, по-разному выявляет различие их структур, поэтому выбирают фиксатор с учетом особенностей материала.

Фиксирующие растворы следует готовить непосредственно перед употреблением.

По характеру действия фиксаторы делят на несколько групп:

1) фиксирующие ядро, или ядерные фиксаторы – Навашина, Модилевского, Карнуа, Яковлева и др.);

2) фиксирующие протоплазму (фиксаторы Флеминга, Гурмана, по Мовесу и др.);

3) фиксирующие митохондрии и пластиды (фиксаторы Левитского, Рего, смесь Гаммалунда и др.);

4) фиксаторы для цитохимических исследований (фиксаторы – Бродского – ФСУ, Бирх-Гиршфельда, Карнуа и др.).

## **ХИМИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ КЛЕТОК**

Современная биологическая наука приближается к пониманию многих фундаментальных функций живого на уровне клетки, что позволяет делать определенные теоретические обобщения знаний о сущности живого, ставить и решать важнейшие проблемы в растениеводстве, медицине, микробиологической промышленности, биотехнологии и других областях.

Физиология растений тесно сближается с биохимией: во многих случаях эти науки взаимно переплетаются, дополняя и обогащая друг друга. Биохимия позволяет познать химическое строение растительной клетки и сущность обмена веществ, представляющих основу и содержание процессов жизнедеятельности растения.

Химия веществ растительного происхождения необычайно богата. Главный компонент живой протоплазмы составляют белки, формой существования которых, по известному определению Ф. Энгельса, является жизнь. Белки синтезируются из аминокислот и пептидов по строго определенной программе, заложенной в нуклеиновых кислотах. Основной строительный и энергетический материал для синтеза поставляют углеводы. Они – главный продукт фотосинтеза, основа целлюлозного скелета клетки. Не менее важное значение в обмене веществ имеют органические кислоты и органические фосфаты, запасующие и поставляющие энергию для химических превращений. Исключительная роль в создании плазматических мембран и компартментализации метаболитов и метаболических реакций принадлежит липидам. Вещества фенольной природы, алкалоиды, различные терпены, гликозиды, относившиеся ранее к так называемым веществам вторичного происхождения, выполняют очень важные и во многом еще недостаточно изученные функции в жизнедеятельности растений. Основная цель реализации рекомендаций – оказать помощь студентам в приобретении навыков самостоятельной работы, необходимых при постановке биохимических опытов в школе.

## Тема «Белки и аминокислоты»

Белки являются важнейшими компонентами всех живых клеток. Это высокомолекулярные соединения, построенные из аминокислот. Микромолекулы белка имеют молекулярную массу от 10 000 до нескольких миллионов и состоят из одной или нескольких полипептидных цепей. Белки могут выполнять роль как конституционных, так и запасных веществ в клетке. Ферменты также являются белками. Каждый вид растений обладает белками специфичного строения.

### Лабораторная работа 1 «Выделение запасных белков и изучение их свойств»

**Материалы и оборудование:** 1) гороховая мука; 2) 10%-ный раствор  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 3) концентрированная  $\text{HNO}_3$  в капельнице с притертой пипеткой; 4) технические весы; 5) колбы конические на 100–150 мл (3 шт.); 6) воронка; 7) штатив с пробирками (7 шт.); 8) мерный цилиндр; 9) калька; 10) фильтр бумажный; 11) спиртовка, 12) держалка для пробок.

**Ход работы.** Взвесить на кальке 5 г гороховой муки, поместить в колбу и налить туда 50 мл 10%-ного раствора  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Взбалтывать 3 минуты и дать отстояться. Затем, после 30 минут, профильтровать через бумажный фильтр, промоченный тем же раствором. Первые темные порции фильтрата вылить повторно на фильтр. Полученный прозрачный раствор белка глобулина разделить в пробирки по 2–3 мл и произвести:

**осаждение белка.** а) В раствор налить избыток воды. Возникает муть из-за нерастворимости белка в воде. Добавить раствор  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Исчезает ли муть?

б) Раствор белка нагревать до кипения. Происходит ли растворение осадка после охлаждения?

в) Высаливание белка. Насыпать в пробирку с раствором белка поваренную соль сухой консистенции и держать до возникновения мути, потом долить воды. Происходит ли переход осадка в раствор?

г) Добавить в раствор белка концентрированную  $\text{HNO}_3$  по каплям, до появления осадка из-за денатурации белка. Реакция проводится только в вытяжном шкафу. Происходит ли растворение осадка после добавления раствора  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ?

#### **Вопросы для самоконтроля.**

1. Назвать компоненты клеток и обосновать их физиологические функции.

2. Из чего состоят белки?

3. Написать формулы 3–4-х основных структурных единиц белковой молекулы.

4. Какова роль белков в клетке?

### Литература

1. Либберт Э. Физиология растений. – М.: Мир, 1976. – С. 17-31.
2. Иост И. Физиология клетки. – М.: Мир, 1975. – С. 9-29.
3. Кушманов О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии, – Н.: Медицина, 1983. – С. 4-19.
4. Медведев С.С. Физиология растений: Учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета. – 2004. – 336 с.
5. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
6. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.
7. Филиппова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.

### Тема «Углеводы» Лабораторная работа 2

#### «Обнаружение запасных сахаров в растительном материале»

**Материалы и оборудование:** 1) свежий или высушенный растительный материал (лук, морковь, сахарная свекла); 2) глюкоза; 3) сахароза; 4) 4%-ный раствор  $\text{CuSO}_4$ ; 5) щелочный раствор сегнетовой соли (200 г сегнетовой соли и 150 г  $\text{KOH}$  или  $\text{NaOH}$  в 1 л  $\text{H}_2\text{O}$ ); 6) 20%-ный  $\text{HCl}$  в капельнице; 7)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  порошкообразный; 8) тарелки (3 шт.) (можно другие емкости для овощей); 9) скальпели (5 шт.); 10) штатив с пробирками (20 шт. пробирок); 11) водяная баня; 12) спиртовка; 13) мерный цилиндр на 100–200 мл; 14) колба для фелинговой жидкости; 15) пипетки на 2–3 мл (3 шт.); 16) держалка для пробирок; 17) воронки (3 шт.); 18) бумажные фильтры; 19) стакан химический; 20) спички.

**Ход работы.** Нарезанные на мелкие кусочки луковички лука, корнеплоды моркови или сахарной свеклы помещают в отдельные пробирки, насыпая их примерно на 1/4 пробирки, затем заливают малым количеством воды и нагревают в течение 5 мин на кипящей водяной бане. Полученную вытяжку профильтровывают и переносят в две чистые пробирки при помощи пипетки одинаковыми порциями фильтрата. С одной порцией осуществляют реакцию на редуцирующие сахара, со второй – проводят гидролиз сахарозы при помощи соляной кислоты. В дальнейшем, после нейтрализации кислоты приливают фелингову жидкость в равном объеме и вновь нагревают до  $100^\circ\text{C}$ .

Полученные результаты записать в таблицу 1, оценивая количество  $\text{Cu}_2\text{O}$  по пятибалльной шкале:

Сделать выводы о присутствии в исследованном материале редуцирующих сахаров и сахарозы.

Таблица 1. Образование окиси меди

Объект	Количество $\text{Cu}_2\text{O}$	
	до гидролиза	после гидролиза

### Литература

1. Либберт Э. Физиология растений. – М.: Мир, 1976. – С. 17-31.
2. Иост И. Физиология клетки. – М.: Мир, 1975. – С. 9-29.
3. Кушманов О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии, – Н.: Медицина, 1983. – С. 4-19.
4. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
5. Медведев С.С. Физиология растений. Учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
6. Филиппова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

### Лабораторная работа 3

#### «Обнаружение химических компонентов крахмала»

**Материалы и оборудование:** 1) крахмал (можно получить из растертого картофеля); 2) 20%-ная  $\text{HCl}$ ; 3) раствор J в KJ в капельнице; 4)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; 5) фелингова жидкость; 6) электроплитка; 7) весы технические; 8) колба на 100–150 мл; 9) мерный цилиндр; 10) стаканчик химический; 11) штатив с пробирками (7 шт.); 12) градуированная пипетка на 2 мл; 13) калька.

**Ход работы.** Крахмал представляет собой полисахарид, состоящий из смеси амилозы и амилопектина – двух близких полисахаридов. В молекуле крахмала большое количество остатков глюкозы попарно соединено в мальтозы. Крахмальный клейстер при кипячении с минеральной кислотой гидролизует до глюкозы через ряд промежуточных продуктов, называемых декстринами, с постепенно уменьшающейся молекулярной массой. Слежка за гидролизом крахмала осуществляется с помощью реакции с раствором йода. При этом йод красит крахмал в синий цвет, амилодекстрин – в фиолетовый, эритродексин – в красный, ахродекстрин – в оранжевый, а с мальтодекстрином и мальтозой цвет не изменяет (остается желтым).

Приготовить 0,1%-ный крахмальный клейстер. Взвесить на технических весах 0,05 г крахмала, насыпать его в стаканчик и добавить туда 10 мл воды, а затем все тщательно перемешать. Набрать в колбу 40 мл воды, подогреть до кипения, слить в нее содержимое стаканчика, перемешать, еще раз вскипятить раствор и снять с огня. Вставить в штатив 6–7 пробирок. Слить в пробирку 4–5 мл крахмального клейстера. Добавить в

колбу 1,5 мл 20%-ной HCl и подогреть на электроплитке или газовой горелке. С появлением первых пузырьков в начале кипения слить из колбы 4–5 мл во вторую пробирку. Продолжить кипячение содержимого колбы, сливая из нее периодически, через каждые 5 мин по 4–5 мл в последующие пробирки. Довести пробы в пробирках до охлаждения. Далее развести их водой и влить 5 капель раствора J в KJ. Когда окрашивание йода отсутствует, гидролиз можно считать окончанным. Сделать с оставшимся в колбе раствором реакцию на редуцирующие сахара. Другими словами, необходимо влить примерно 2–3 мл жидкости в чистую пробирку, нейтрализуя, тем самым, кислоту содой. Затем влить столько же фелинговой жидкости и нагревать до кипения.

Результаты свести в таблицу 1.

Таблица 1. Степень гидролиза крахмала

Продолжительность гидролиза в мин.	0	5	10	15	20	25
Окраска раствора						

Сделать вывод о причинах изменения окраски растворов и указать время, в течение которого произошел полный гидролиз крахмала.

#### **Вопросы и задания**

1. Какие реакционные группировки в молекуле сахара вы знаете?
2. Чем отличаются моносахариды от полисахаридов?
3. Какова роль углеводов в клетке и растительном организме?
4. Что такое «редуцирующие» сахара?
5. Назовите важнейшие сахара из класса олигосахаридов, присутствующих в растении.
6. Почему крахмал разных сортов растений прокрашивается йодом от голубого до фиолетового цвета?

#### **Литература**

1. Кретович В. Биохимия растений. – К.: Высшая школа, 1980. – С. 35.
2. Степаненко Б.Н. Химия и биохимия углеводов. – М.: Высшая школа, 1978. – С. 7-11, 126-139.
3. Артамонов В.И. Занимательная физиология растений. – М.: Агропромиздат, 1991. – 336 с.
4. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
5. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
6. Филиппова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

## Тема «Липиды»

Липиды – гетерогенная группа веществ, которые содержатся во всех живых клетках организмов. Физиологические функции липидов очень разнообразны. Липиды растений – неотъемлемые компоненты любых мембран, запасные вещества высокой калорийности и кофакторы реакций. Фосфолипиды оказывают влияние на проницаемость клеток, а каротиноиды и стероиды функционируют как витамины и провитамины. Жиры – это смесь эфиров трехатомного спирта глицерина с длинноцепочными жирными кислотами. Консистенция жиров зависит от природы составляющих их жирных кислот.

В природных жирах встречаются только кислоты с четным числом углеродных атомов. Это объясняется их биосинтезом из  $C_2$  – единиц (активированная  $CH_3COO_4$ ). Природные кислоты с двумя или тремя двойными связями встречаются в молекулах с 18 углеродными атомами. Свойства липидов определяют с помощью индексов: йодное число – показатель двойных связей, присутствующих в жирных кислотах, кислотное число – показатель свободных, неэтерифицированных жирных кислот: число омыления – показатель свободных и этерифицированных жирных кислот.

Обращаясь к данной теме, ставим задачу научить студентов определять различия в химическом строении растительных и животных жиров, уметь провести в условиях школьного урока простейшие лабораторные занятия и применить полученные знания в работе кружка биологии.

### Лабораторная работа 4

#### «Омыление жира с выделением свободных жирных кислот»

**Материалы и оборудование:** 1) жир; 2) этиловый спирт; 3) 40%-ный раствор едкого натра; 4) 10%-ный раствор серной кислоты; 5) лакмусовая бумага; 6) электроплитка; 7) весы технические; 8) фарфоровая чашка; 9) мерный цилиндр; 10) стаканчик химический; 11) градуированная пипетка на 2 мл; 12) медный купорос.

#### **Ход работы.**

*1. Омыление жира.* В пробирку ввести 3 г жира, 3 мл этилового спирта и 3 мл 30–40%-ного раствора едкого натра. Пробирку закрыть пробкой с вставленной в нее длинной стеклянной трубкой для конденсации паров спирта, закрепить в штативе и нагреть на водяной бане в течение 8 минут. Происходит омыление. Вылить содержимое пробирки в фарфоровую чашку, куда предварительно налить 50 мл теплой воды, и хорошо перемешать стеклянной палочкой. Часть раствора отлить в пробирку, добавить 10 мл воды и хорошо взболтать до образования пены. Написать реакцию омыления жиров.

2. *Выделение свободных жирных кислот.* К раствору в фарфоровой чашке постепенно прибавить 10%-ный раствор серной кислоты до кислой реакции по лакмусу. Затем чашку нагреть до выделения свободных жирных кислот. Кислоты отделить от водного слоя (твердые – фильтрованием, жидкие – делительной воронкой, после чего в водном растворе останется глицерин).

Кислоты оставить для анализа. Открытие глицерина: к 2 мл раствора прибавить медного купороса, а затем раствор едкого натрия до щелочной реакции. При этом должно наблюдаться слабое синее окрашивание вследствие образования глицерата меди.

### Литература

1. Либберт Э. Физиология растений. – М.: Мир, 1976. – С. 17-31.
2. Иост И. Физиология клетки. – М.: Мир, 1975. – С. 9-29.
3. Кушманов О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – Н.: Медицина, 1983. – С. 4-19.
4. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
5. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
6. Филиппова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

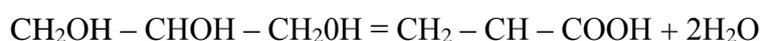
## Лабораторная работа 5 «Качественное исследование жира»

**Материалы и оборудование:** 1) говяжье сало и растительное масло; 2) водяная баня; 3) спирт; 4) эфир; 5) бензол; 6) хлороформ; 7)  $K_2SO_4$  (крист.); 8) спиртовой раствор J в KJ 9) крахмал (1%-ный раствор); 10) бромная вода.

### Ход работы.

1. *Растворимость жира.* Исследуют растворимость говяжьего сала и растительного масла при обычной температуре и при нагревании на водяной бане, в воде, спирте, эфире, пейтролейном эфире, дихлорэтаноле, хлороформе, бензоле и сероуглероде.

2. *Проба на глицерин.* Все жиры дают реакции, характерные для глицерина, чем могут быть отличены от схожих с ними по многим другим свойствам жирных кислот. Простейшей реакцией на глицерин является так называемая акролеиновая проба, основанная на образовании акролеина при отнятии воды от глицерина:



Небольшой кусочек сала смешать с кристаллическим кислым серно-кислым калием или борной кислотой, перенести все это в сухую пробирку и нагревать на пламени горелки. Появляется своеобразный, сильный и резкий запах акролеина. В выходящие из пробирки пары вносится бумажка с аммиачным раствором азотнокислого серебра. Она должна почернеть из-за процессов восстановления акролеином серебряной соли.

3. *Пробы на ненасыщенные жирные кислоты.* В 1 мл воды и 1 мл растительного масла в пробирке прибавить 2 капли спиртового раствора йода. Недолго встряхивая, провести наблюдение. Внутреннее содержимое пробирки с раствором крахмала не синее. Другими словами, присутствие свободного йода не обнаруживается.

К 1 мл растительного масла добавляют несколько капель бромной воды, которая тотчас обесцвечивается.

#### **Вопросы для самоконтроля.**

1. Какие соединения относятся к липидам?
2. Каков химический состав насыщенных жирных кислот? Какие кислоты вы знаете?
3. Каков химический состав ненасыщенных жирных кислот? Назовите ненасыщенные кислоты.
4. Какие реакции на жиры можно назвать характерными? Почему?

#### **Литература**

1. Плешков К. Биохимия сельскохозяйственных культур. – М.: Колос, 1975.
2. Кретович В.Л. Биохимия растений. – М.: Высшая школа, 1980.
3. Кушманов О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – Н.: Медицина, 1983. – С. 4-19.
4. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
5. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
6. Филипцова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

#### **Тема «Лигнин»**

Лигнин – вещество ароматической природы, которым пропитаны одревесневшие стенки растительных клеток. Поэтому наибольшее количество лигнина содержится в древесине (например, в древесине хвойных деревьев до 50% лигнина). Лигнин представляет собой аморфное вещество, состоящее из 62–65% углерода и 5–6% водорода. В состав лигнина входит много метоксильных групп –  $\text{OCH}_3$  и свободных гидроксильных групп. Основным структурным элементом лигнина является оксигидрокониферильный спирт. Лигнин с большим трудом разрушается микроорганизмами;

отдельные части его молекул конденсируются, присоединяют аминогруппы, образуя стойкий почвенный гумус.

### **Лабораторная работа 6 «Цветные реакции на лигнин»**

**Материалы и оборудование:** 1) небольшие кусочки различных пород древесных растений; 2) флюороглицин; 3) HCl-концентрированная; 4) анилин-сульфат; 5) 10%-ный H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 6) 1%-ный KMnO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>OH (концентрированный).

**Ход работы.** 1. Одревесневшие кусочки различных пород деревьев пропитать раствором флюороглицина, обсушить на воздухе, затем смочить концентрированной HCl; объяснить, почему одревесневшие части приобрели вишнево-красный цвет.

2. Обработать кусочки различных пород деревьев раствором анилин-сульфата. Образуется красивое, золотисто-желтое окрашивание, усиливающееся при обработке 10%-ной H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Объясните суть реакции.

3. Образец древесины поместить в 1%-ный KMnO<sub>4</sub> на несколько минут и перенести в разбавленную HCl до его посветления, вновь сполоснуть и держать в парах аммиака. Древесина лиственных пород становится ярко-красной, у хвойных окраска в большинстве случаев совсем бледная. Чем объясняется цвет?

#### **Литература**

1. Кушманов О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – Н.: Медицина, 1983. – С. 4-19.
2. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
3. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
4. Филипцова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
5. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.
6. Плешков К. Биохимия сельскохозяйственных культур. – М.: Колос, 1975.
7. Кретович В.Л. Биохимия растений. – М.: Высшая школа, 1980.

### **Тема «Фосфаты органические»**

В растение фосфор поступает в виде аниона ортофосфорной кислоты и в процессе обмена веществ образует различные фосфоорганические соединения: фосфатиды, нуклеопротеиды, эфиры фосфорной кислоты и многие коферменты углеводного, белкового и жирового обмена. Эфирные связи фосфорной кислоты несут запас энергии, который затем используется в

растении на различные процессы превращений веществ. Основными веществами, запасаящими энергию в виде пирофосфатных макроэргических связей, являются АТФ и АДФ. Содержание фосфорилированных гексоз в растениях составляет 0,034–0,077% сырого вещества листьев гороха, сахарной свеклы, овса; 0,14–4,50% – сухого вещества семян гороха или клубней картофеля в зависимости от уровня снабжения фосфором.

### **Лабораторная работа 7** **«Гидролиз нуклеопротеидов дрожжей»**

**Материалы и оборудование:** 1) дрожжи; 2) 5%-ный раствор серной кислоты; 3) колбочка на 100 мл; 4) бумажный фильтр; 5) пробирка; 6) 10%-ный раствор NaOH; 7) электроплитка; 8) 1%-ный раствор CuSO<sub>4</sub>; 9) аммиачный раствор азотнокислого серебра; 10) раствор молибденово-кислого аммония; 11) концентрированная HNO<sub>3</sub>; 12) лакмус.

**Ход работы.** В колбочке на 100 мл помещают 3–5 г сухих дрожжей и добавляют 40 мл 5%-ного раствора серной кислоты. Содержимое тщательно перемешивают. Небольшое количество жидкости отфильтровывают в пробирку (0,5–1 мл), нейтрализуют едким натром и производят биуретовую реакцию.

В дальнейшем оставшаяся в колбочке жидкость подвергается гидролизу. Колбочку закрывают пробкой с обратным холодильником, укрепляют на штативе над электроплиткой и осторожно кипятят в течение часа. Для сохранения постоянства жидкости в колбе туда время от времени добавляют подогретую дистиллированную воду. Затем гидролизат охлаждают, фильтруют и используют для дальнейшего анализа.

1. *Реакция Троммера на пентозы.* В пробирку взять 0,5 мл фильтрата, нейтрализовать его на лакмус 10%-ным раствором NaOH, добавить 2–3 капли 1%-ного раствора CuSO<sub>4</sub> и кипятить. Появляется желто-бурый осадок. Почему? Напишите реакцию.

2. *Серебряная проба на азотистые основания.* В пробирку наливают 0,5 мл фильтрата, добавляют 10%-ный NaOH до щелочной реакции на лакмус и 2–3 капли аммиачного раствора азотнокислого серебра. Выпадает бурый осадок солей пуриновых оснований. Напишите реакцию. Объясните химизм образования бурого цвета.

3. *Открытие фосфорной кислоты.* Пробирку заливают 0,5 мл фильтрата, добавляя 10 капель 10%-ного раствора NaOH и 5 капель раствора молибденово-кислого аммония с концентрированной HNO<sub>3</sub>. Все это кипятят, в дальнейшем охлаждая. Выпадает желтый осадок фосфорномолибдено-кислого аммония. Напишите реакцию. Чем объясняется желтый осадок?

#### **Вопросы для самоконтроля.**

1. Составьте схему строения нуклеотидов – АТФ, ГДФ, ЦТФ, АМФ, УДФ, АДФ.

2. Чем можно объяснить желто-бурый осадок в реакции Троммера? Напишите реакцию.
3. Какие пуриновые и какие пиримидиновые основания вы знаете?
4. Сколько энергии несет каждый остаток фосфорной кислоты?

#### Литература

1. Кретович В.Л. Основы биохимии растений. – М.: Высшая школа, 1971. – С. 56-78.
2. Корнберг А. Синтез ДНК. – М.: Мир, 1977. – С. 9-30.
3. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
4. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
5. Филиппова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
6. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.
7. Кретович В.Л. Биохимия растений. – М.: Высшая школа, 1980.

### Тема «Ферменты»

Практически все химические превращения в организме протекают с участием ферментов, содержащихся в каждой клетке живых тканей.

Именно эти вещества являются двигателями всех процессов, объединяемых понятием «обмен веществ» или «метаболизм». При этих превращениях освобождается и поглощается энергия, что, в свою очередь, зависит от бесчисленного множества химических реакций, которые могут происходить лишь благодаря специальным «мягким» условиям, имеющимся в живых клетках (нормальное давление, температура, близкая к комнатной температуре, практически нейтральная реакция среды и т.д.). Содержатся ферменты только в тканях животных и растений в ничтожном количестве. Присутствие ферментов обнаруживается не так, как это принято в химии других веществ. Выявить наличие фермента можно только по его действию, по способности ускорять и катализировать определенную химическую реакцию. При работе с ферментами нужно помнить, что они имеют белковую природу и им свойственны все химические и физические особенности белков.

### Лабораторная работа 8 «Изучение свойств ферментов»

**Материалы и оборудование:** 1) крахмал; 2) раствор Люголя; 3) сахароза; 4) бумажный фильтр; 5) пробирки; 6) мерный цилиндр; 7) электроплитка; 8) раствор NaOH; 9) раствор HCl; 10) 15%-ный раствор перекиси водорода; 11) раствор медного купороса; 12) лакмус; 13) кусочек сырого мяса, 14) кусочек сырой печени, 15) кровь.

### **Ход работы.**

1. *Влияние температуры на действие ферментов.* В три пробирки вносят по 1 мл слюны в каждую. В слюне содержится фермент амилаза. Первую пробирку кипятят на водяной бане 5 минут. Затем во все пробирки добавляют по 2–3 мл раствора крахмала. Вторую ставят в термостат при 37°C, третью пробирку – на лед. Через 15–20 минут во все пробирки добавляют по 5 капель раствора Люголя. В пробирке с прокипяченной слюной появляется синее окрашивание, в пробирке из термостата – желтое, в пробирке со льдом желтое окрашивание появится медленно.

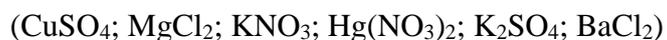
2. *Влияние pH на активность ферментов.* Две пробирки заливают 2–4 мл раствора крахмала и 0,5 мл слюны. В одну приливают 1–2 мл раствора HCl. Через 10–15 минут в обе пробирки наливают по 3 капли раствора Люголя. В пробирке, где находилась кислота, амилаза инактивируется, а раствор синее.

3. *Специфичность действия ферментов.* Две пробирки заполняют по 1 мл слюны. В первую наливают 5 мл раствора крахмала, а во вторую 5 мл раствора сахара. Затем кладут их в термостат, держа при температуре 37°C 15–20 минут. Затем в них наливают по 1 мл раствора NaOH и несколько капель раствора медного купороса. Затем мешают и нагревают до кипения. В пробирке, где находился крахмал, обнаруживается положительная проба Троммера. В пробирке с сахарозой – реакция отрицательная.

4. *Открытие каталазы.* В три пробирки наливают по 2 мл 10–15%-ного раствора перекиси водорода. В одну из них помещают кусочек сырого мяса, во вторую – сырой печени, в третью – кровь. Записывают наблюдения. При наличии фермента каталазы происходит реакция:



Жидкость вспенивается, так как бурно выделяются пузырьки кислорода. Проверьте, какая из исследуемых солей является ядом для каталазы.



### **Вопросы для самоконтроля.**

1. Что вы знаете о структуре ферментов?
2. Какими свойствами обладают ферменты?
3. Что является активным центром в ферменте?
4. Каковы принципы действия ферментов?

### **Литература**

1. Розенгарт В.И. Ферменты – двигатели жизни. – Л.: Наука. Ленинградское отделение, 1983. – С. 10–53.
2. Ренненберг Р. Эликсиры жизни. – М.: Мир, 1987. – С.18–32.
3. Кушманов О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – Н.: Медицина, 1983. – С. 4–19.

4. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
5. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
6. Филиппова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

**Тема «Фотосинтез»**  
**Лабораторная работа 9**  
**«Образование крахмала в листьях на свету»**

**Материалы и оборудование:** 1) листья растений; 2) спирт; 3) йод; 4) колба; 5) пробирки; 6) фарфоровая чашка; 7) энтомологические булавки; 8) тонкие срезы корковой пробки; 9) куски картона; 10) электрическая плитка; 11) водяная баня; 12) склянка с содой; 13) раствор соляной кислоты; 14) электролампа мощностью 200–300 Вт; 15) раствор йода в йодистом калии; 16) формалин.

**Ход работы.** Для проведения опыта растение (примула, пеларгония) обильно поливают и выдерживают 2–3 дня в темноте до полного обескрахмаливания. Один лист отрезают и проверяют на содержание крахмала. Лист обесцвечивается при помощи спирта. В дальнейшем он обрабатывается раствором йода. Отсутствие посинения демонстрирует тот факт, что крахмал в листе отсутствует.

Опыт рекомендуется проводить со срезанными и поставленными в воду листьями, у которых крахмал накапливается быстрее, так как отток его отсутствует.

Срезают лист, обновляют срез лезвием бритвы под водой и опускают черенок в стакан. Затемняют часть листовой пластинки, для чего накладывают на верхнюю и нижнюю поверхность листа пробковые кружки (тонкие срезы корковой пробки) точно один против другого и закрепляют с помощью энтомологических булавок. Можно опыт поставить иначе. Для этого необходимо покрыть лист с обеих сторон кусками картона или темной бумаги с вырезанной фигурой или буквой. Берут два одинаковых куска картона и на обоих вырезают какую-либо фигуру (например, звездочку) одинаковых размеров. Один кусочек картона прикрепляют к нижней стороне листа, а другой – к верхней так, чтобы они точно совпали. Растение ставят на свет или под люминесцентную лампу. Через 5–6 часов лист срезают и проверяют в нем содержание крахмала. Для этого лист помещают в пробирку с водой и кипятят три минуты, чтобы убить клетки. Воду сливают, в колбу наливают спирт и нагревают на водяной бане до полного извлечения пигментов. Спирт сливают, промывают лист водой, помещают в фарфоровую чашку и обливают раствором йода. Записывают результаты. Осве-

щенные участки листа окрашиваются в синий цвет, а затемненные – в желтый. Опыт убеждает, что в зеленых листьях на свету образуется крахмал.

### **Значение хлорофилла для образования крахмала**

Опыт проводят на растениях хлорофитум пестролистный или пеларгония пестролистная, которые выдерживают сутки в световой камере. Затем отрезают по одному листу и продельвают работу по определению в них крахмала, как в предыдущем опыте. Устанавливают, что крахмал образуется только в зеленой части листа.

### **Значение углекислого газа для фотосинтеза**

Срезают два листа пеларгонии (проверенных на отсутствие крахмала), ставят черешками в стаканчики с водой. Один помещают под стеклянный колпак в атмосферу, обогащенную углекислым газом. Для чего рядом с листом ставят склянку с содой и небольшим количеством соляной кислоты. Распад соды под действием соляной кислоты обогатит воздух диоксидом углерода ( $\text{CO}_2$ ). Второй лист помещают в атмосферу, лишенную углекислого газа. Для чего рядом с листом ставят сосуд с крепким раствором щелочи и закрывают другим стеклянным колпаком. Для полной герметичности следует поставить стаканы с листьями и склянки с содой и щелочью на куски стекла, а края стеклянных колпаков смазать вазелином. Выставляют оба листа на яркий солнечный свет или электрический свет. Через 3–5 часов листья обливают кипящей водой, обесцвечивают спиртом, размягчают погружением в горячую воду и обливают раствором йода. Делают выводы и соответствующие рисунки. В выводах указывают, какие условия необходимы для процесса фотосинтеза и образования крахмала.

### **Получение фотографии на листе растения**

Для опыта подбирают растения настурции, плектрантуса, примулы, герани или крапивы. Растения обескрахмаливают. Для этого на несколько дней помещают в темную камеру и проверяют наличие крахмала в листе с помощью раствора йода в йодистом калии (цвета некрепкого чая). Подбирают контрастный негатив и прикрепляют к листу энтомологическими булавками или скрепками. Снизу под лист ставят картон. Затем растение или лист выставляют на яркий солнечный свет или свет электролампы (200–300 Вт), чтобы свет попадал на лист через негатив. Через пару суток снимают негатив, лист срезают, опуская в стакан с кипящей водой. Затем происходит обесцвечивание листа до белого цвета с помощью спирта. Затем его кладут в фарфоровую чашку, заливая слабым раствором йода. Под действием йода участки листа, на которые падал свет, окрашиваются в темный цвет, так как там происходило образование крахмала. И здесь появляется похожий на негативный рисунок. Фотографии на листьях можно хранить в растворе йода в йодистом калии с небольшим добавлением формалина.

### **Вопросы для самоконтроля.**

1. Что вы знаете о процессе фотосинтеза?
2. Что происходит в растении в световую фазу фотосинтеза?
3. Что происходит в растении в темновую фазу фотосинтеза?

### Литература

1. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
2. Практикум по физиологии растений / Под ред. Гунара И.И. – М.: Колос, 1972,
3. Нога Г.С. Опыты и наблюдения над растениями: пособие для учителей. – М.: Просвещение, 1976.
4. Генкель П.А. Физиология растений: Учебное пособие по факультативному курсу для IX класса. – М.: Просвещение, 1974.
5. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
6. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
7. Филипцова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
8. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

### Тема «Превращение запасных веществ»

Типичной реакцией на крахмал служит его посинение под действием йода. С помощью нее обнаруживаются мельчайшие примеси крахмала. Гидролиз крахмала ферментом – амилазой – ведет к образованию солодового сахара – мальтозы, который в дальнейшем под влиянием фермента – мальтазы – гидролизуется в глюкозу. Крахмал не растворяется в холодной воде, а в горячей воде образует коллоидный раствор крахмального клейстера. Кипячение крахмального клейстера с минеральной кислотой ведет к гидролизации крахмала до глюкозы через ряд промежуточных продуктов, декстринов. Слежку за процессом гидролиза крахмала можно осуществлять с помощью реакции с раствором йода. При этом происходит посинение крахмала, амилодекстрин приобретает фиолетовый цвет, эритродекстрин – красный, ахродекстрин – оранжевый, а с мальтодекстрином и мальтозой окрашивание не происходит.

### Лабораторная работа 10 «Кислотный гидролиз крахмала»

Готовят 0,1%-ный крахмальный клейстер. Для этого отвешивают 0,05 г крахмала, высыпают его в стаканчики, добавляют 10 мл воды и тщательно размешивают. Наливают в колбу 40 мл воды, нагревают до кипения, выливают в нее содержимое стаканчика, взбалтывают, дают раствору еще раз закипеть и снимают с огня. Ставят в штатив 6–7 пробирок. Отливают в первую пробирку 4–5 мл крахмального клейстера. В колбу добавляют 1,5 мл 20%-ной соляной кислоты и нагревают до кипения (появление

первых пузырьков). Отливают из колбы 4–5 мл во вторую пробирку. Продолжают кипятить содержимое колбы, отливая из нее через каждые 5 мин по 4–5 мл в следующую пробирку. Дают пробам охладиться, разбавляют их водой и добавляют по 5 капель раствора йода в йодистом калии. Если окрашивание йодом не происходит, гидролиз можно считать окончанным. С раствором, оставшимся в колбе, продельывают реакцию на редуцирующие сахара. Результаты записывают в таблицу 1 по следующей форме:

Таблица 1. Кислотный гидролиз крахмала

Продолжительность гидролиза (мин)	0	5	10	15	20	25
Окраска раствора						

Делают вывод о причинах изменения окраски растворов и указывают время, в течение которого произошел полный гидролиз крахмала.

### Получение шкалы гидролиза крахмала

Под действием фермента амилазы крахмал гидролизует через те же промежуточные продукты, то есть декстрины, которые образуются при кислотном гидролизе. Амилаза широко распространена в растениях. Особенно много активной амилазы в солоде, в проросших зернах злаков.

Наливают в пробирки одинаковое количество раствора амилазы и крахмального клейстера, выдерживают их при разных температурах и периодически делают пробы с йодом. По скорости появления промежуточных продуктов судят об активности фермента.

Готовят солодовую вытяжку, для чего помещают в колбу 1 г солода, заливают его 50 мл теплой воды (35–40°C), добавляют немного глицерина для ускорения извлечения фермента, перемешивают, настаивают в течение получаса и профильтровывают. Фильтрат содержит активную амилазу. Наливают в 14 пробирок по 5 мл слабого раствора йода, а в 2 пробирки по 5 мл крахмального клейстера и по 1 мл солодовой вытяжки, взбалтывают. Берут из этих пробирок по 0,5 мл жидкости и вносят в первую пару пробирок с раствором йода. Одну из этих пробирок помещают в водяную баню, предварительно нагретую до 45°C, а другую ставят в штатив, через 2 мин. вливают по 0,5 мл жидкости во вторую пару пробирок с раствором йода, еще через 2 минуты – в третью пару и т.д. Результаты записывают в таблицу 2, указывая в каждой графе окраску раствора йода.

Таблица 2. Продолжительность крахмала в минутах

Температура 0°C	Продолжительность гидролиза, мин.							
	0	2	4	6	8	10	12	14
15								
45								

Делают вывод о влиянии температуры на активность амилазы.

### **Обнаружение амилазы в прорастающих семенах**

Разрезают несколько непроросших зерен злаков пополам, слегка смачивают водой и раскладывают пинцетом на одной половине пластинки из крахмального агара поверхностью среза вниз. На другую половину агаровой пластинки помещают несколько проросших семян того же растения, также разрезанных пополам и смоченных водой. Закрывают крышкой, чтобы не было подсыхания. Через час осторожно снимают семена и обливают всю пластинку слабым раствором йода (цвета жидкого чая). В выводах отвечают на вопросы.

### **Ферментативный гидролиз крахмала клубней картофеля**

Навеску клубней картофеля 20 г измельчают в ступке и переносят в колбу емкостью 200 мл. Затем добавляют 100 мл горячей воды и выдерживают колбу в течение 0,5–1 часа на водяной бане для клейстеризации крахмала. Затем колбу охлаждают и проводят ферментативный гидролиз крахмала. В качестве препарата используют разбавленную слюну. Препарат слюны готовят следующим образом. Предварительно сполоснув ротовую полость и накопив слюну, выпускают ее, разбавляя водой примерно в 4 раза, и фильтруют. 10 мл фильтрата вносят в колбу, добавляя 5 мл 10%-ного раствора хлористого натрия, который активизирует действие амилазы. Гидролиз проводят при температуре 40°C в термостате. Время гидролиза зависит от особенностей исследуемого материала и обычно равно нескольким часам. Окончание гидролиза определяют с помощью йодной пробы. Если синего окрашивания нет, то гидролиз прошел полностью.

### **Превращение веществ при прорастании семян**

Для того, чтобы установить, каким превращениям подвергаются запасные вещества, сопоставляют химический состав проросших и непроросших семян. Для этого растирают в ступках непроросшие и проросшие крахмалистые семена пшеницы и маслянистые семена клеверины. Помещают растительный материал в разные пробирки, заливают небольшим количеством воды, нагревают в кипящей водяной бане. Сливают вытяжки в чистые пробирки, приливают равный объем фелинговой жидкости и доводят до кипения. По количеству образовавшейся закиси меди дают оценку содержания редуцирующих сахаров. К оставшемуся в пробирках материалу приливают слабый раствор йода и по интенсивности посинения оценивают содержание крахмала.

Делают тонкие срезы непроросших и проросших маслянистых семян, помещают их на предметные стекла в капли раствора краски «Судан-III», закрывают покровными стеклами. Через 5–10 мин промывают срезы водой, рассматривают в микроскоп в капле глицерина и дают оценку содержания жира – по количеству и размерам капель, окрашенных в красный или оранжевый цвет. Делают выводы о превращении углеводов и жиров при прорастании крахмалистых и маслянистых семян.

Для микроскопирования крахмальных зерен сухих и проросших семян пшеницы взять препаровальной иглой крупинку эндосперма вблизи заро-

дыша, растереть в капле воды на предметном стекле, рассмотреть при большом увеличении, подсчитать количество крахмальных зерен в разных стадиях разрушения, растворившихся под влиянием образовавшегося в прорастающем зерне фермента амилазы. В процессе опыта устанавливают, что при прорастании семян происходит превращение крахмала в сахар, который и использует на питание образовавшийся проросток.

### **Вопросы для самоконтроля (опыт по обнаружению амилазы в прорастающих семенах)**

1. Какое действие оказали семена на пластинку?
2. Почему проросшие и непроросшие семена оказали неодинаковое действие?

### **Литература**

1. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
2. Практикум по физиологии растений / Под ред. Гунара И.И. – М.: Колос, 1972,
3. Нога Г.С. Опыты и наблюдения над растениями: пособие для учителей. – М.: Просвещение, 1976.
4. Генкель П.А. Физиология растений: Учебное пособие по факультативному курсу для IX класса. – М.: Просвещение, 1974.
5. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
6. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
7. Филиппова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
8. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

## **Лабораторная работа 11 «Выделение жира из семян различных растений»**

Для обнаружения жиров нужно взять семя кедровой сосны или семянку подсолнечника, снять с него кожуру и раздавить семя на чистой бумаге. Появится характерное жирное пятно.

Из семян хлопчатника, конопли, льна, подсолнечника и других можно выделить масла. Для этого их измельчают в ступке или на кофейной мельнице. Слегка подогревают для удаления воды и высыпают в большую воронку, укрепленную в штативе. Нижнее отверстие воронки закрывают кусочком марли, снизу на воронку надевают резиновую пробку с зажимом. Семена в воронке заливают бензином или серным эфиром, накрывают сверху стеклом и помещают в вытяжной шкаф. Через 5–20 мин открывают зажим, из воронки сливают жидкость в колбу, которую помещают в водяную баню, предварительно нагретую до 40°C. Эфир или бензин испаряется в воздух, а в колбе остается масло. Для определения процента запаса масла

в семенах их перед опытом высушивают в сушильном шкафу и взвешивают. Ступку после измельчения семян обмывают эфиром, который сливают в воронку с семенами. Семена в воронке несколько раз заливают эфиром до полного извлечения масла. Все полученное масло взвешивают и вычисляют процент масляности семян.

### Литература

1. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
2. Малый практикум по физиологии растений. – М.: МГУ, 1982.
3. Либберт Э. Физиология растений. – М.: Мир, 1976. – С. 17-31.
4. Иост И. Физиология клетки. – М.: Мир, 1975. – С. 9-29.
5. Кушманов О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – Н.: Медицина, 1983. – С. 4-19.
6. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
7. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
8. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

## Тема «Дыхание растений»

Интенсивность дыхания определяют, измеряя количество поглощенного клетками кислорода или выделенного углекислого газа, или окисленного органического вещества. Наиболее удобный объект для изучения интенсивности дыхания – прорастающие семена.

### Лабораторная работа 12 «Дыхание прорастающих семян»

Берут две одинаковые стеклянные банки или конические колбы на 1 л, подбирают к ним пробки. В одну банку насыпают наклюнувшиеся семена фасоли или гороха и плотно закрывают пробками. Вторую банку (пустую) закрывают пробкой, и обе ставят в теплое место, заранее готовят известковую воду (можно взять в аптеке). Для приготовления известковой воды на одну часть негашеной извести берут 20 частей воды, в колбу с водой небольшими порциями добавляют негашеную известь и встряхивают ее. Потом известь дают отстояться. Прозрачная жидкость осторожно сливается в чистую склянку, плотно прикрытую пробкой. Для приготовления баритовой воды на 1 л дистиллированной воды берут 7–10 г едкого бария. Едкий барий при слабом нагревании растворяют в 100 см<sup>3</sup> воды. Полученный раствор быстро вливают в литровую бутылку с 900 см воды. Бутылку плотно закупоривают и в течение 10–15 мин взбалтывают. Взбалтывание повто-

ряют 10–15 раз. После того как раствор отстоится, его осторожно сливают в чистую склянку. При перемешивании и хранении баритовая вода должна как можно меньше соприкасаться с воздухом, иначе раствор быстро помутнеет. В пробке такого же размера, как и для банки с прорастающими семенами, сверлят два отверстия – для воронки и стеклянной трубки и закрывают ею пустую банку. Конец стеклянной трубки опускают в пробирку с известковой (баритовой) водой на 1–2 см, затем вливают в банку через воронку стакан воды. Вода вытесняет из банки воздух, который проходит через известковую воду в виде пузырьков. Вода в пробирке не мутнеет. То же самое проделывают с банкой, в которой находятся проросшие семена. В этом случае вода в пробирке мутнеет. Для контроля учащиеся дуют через стеклянную трубку в другой стакан с известковой водой – она мутнеет. Делают выводы, что прорастающие семена и человек при дыхании выделяют углекислый газ, от присутствия которого мутнеет известковая и баритовая вода. Этот опыт можно проделать иначе. В большую пробирку или колбу наливают щелочь, на поверхность помещают скатанный из ваты шарик. Поверх ваты кладут несколько проросших семян. Затем пробирку (колбу) закрывают пробкой с газоотводной срубкой, конец которой опускают в стакан с подкрашенной чернилами водой. Отмечают, что подкрашенная вода через некоторое время из стаканчика поднимается по трубке. Делают вывод, что прорастающие семена используют кислород при дыхании и выделяют углекислый газ, который поглощается раствором щелочи, из-за чего объем газа в пробирке уменьшается. Подкрашенная вода поднимается по трубке.

При наличии прибора для обнаружения газообмена при дыхании растений и животных (конструкции И.В. Козыря) опыт проводится следующим образом: в нижнее отделение сосуда через отверстие наливают прозрачную известковую воду и плотно закрывают его пробкой. В верхнее отделение сосуда через горловину помещают горсть проросших семян гороха, ячменя или пшеницы. Открыв двухходовой кран, верхнюю горловину плотно закрывают пробкой. Закрыв кран, проверяют прибор на герметичность. Если прибор не пропускает воздуха, можно проводить опыт. Уже через несколько минут после закрытия крана замечают следующее:

а) жидкость, находящаяся в манометре (подкрашенный йодом керосин без пузырьков воздуха), начинает передвигаться в сторону сосуда;

б) на поверхности поглотителя образуется белая пленка и если осторожно взболтать поглотитель, то пленка распадается и жидкость мутнеет.

Выделяемый в процессе дыхания углекислый газ связывается известковой или баритовой водой, в результате поглощения кислорода и углекислого газа объем воздуха внутри сосуда уменьшается. Вследствие уменьшения давления воздуха жидкость в манометре перемещается в сторону сосуда. Подобные опыты ставят с прорастающими семенами других растений. Делают вывод, что прорастающие семена дышат, поглощая из воздуха кислород и выделяя углекислый газ.

### Потеря сухого вещества при прорастании семян

Помещают на чашку весов 10 здоровых и одинаковых по размеру семян, уравнивая их второй порцией из десяти таких же семян. Одну порцию помещают на 1–2 часа в сосуд с небольшим количеством воды, чтобы вызвать набухание семян. Вторую порцию семян взвешивают, помещают в бюкс, высушивают при температуре 130°C (не менее 2-х часов), охлаждают в эксикаторе и снова взвешивают. Наполняют стакан влажными и отжатыми от избытка воды опилками, раскладывают набухшие семена и покрывают их сверху небольшим количеством опилок. Помещают стакан в темноту, по мере подсыхания опилок поливают водой. Через 1–2 недели проростки извлекают из опилок, тщательно промывают корни, обсушивают фильтровальной бумагой, взвешивают, помещают в пакет из фильтровальной бумаги, высушивают при температуре 130°C до абсолютно сухого состояния в течение 4-6 часов, охлаждают в эксикаторе и снова взвешивают. Пересчитывают сухую и сырую массу проростков в 10 экземплярах. Полученные данные оформляют в виде таблицы 1.

Таблица 1.

Вес 10 семян (г)		Содержание воды в семенах, (%)	Вес 10 проростков, (г)		Содержание воды в проростках, (%)	Потеря сухого вещества	
возд. сухой	абсолют. сухой		сырой	абсол. сухой		в г на 10 семян	в % от абсол. сухой массы

Делают выводы о причинах изменения сырой и сухой массы при прорастании семян.

### Литература

1. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
2. Малый практикум по физиологии растений. – М.: МГУ, 1982.
3. Нога Г.С. Опыты и наблюдения над растениями: пособие для учителей. – М.: Просвещение, 1976.
4. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
5. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
6. Филипцова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

## Лабораторная работа 13 «Ферментные системы дыхания»

Ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные превращения дыхательного субстрата, можно разделить на следующие группы: дегидрогеназы (ферменты, активирующие водород), оксидазы и оксигеназы (ферменты, активизирующие кислород), ферменты, выполняющие роль промежуточных переносчиков электронов (водорода).

а) Активность дегидрогеназ можно определить с помощью красок. Например, метиленовой сини, 2,6 – дихлорфенолиндофенола и других, которые в окисленном и восстановленном состоянии разного цвета: бесцветны в восстановленном состоянии (лейкоформы) и окрашены в окисленном.

Для обнаружения ферментов дегидрогеназ 10 проросших семян гороха очищают от кода и разделяют на семядоли. Половину всех семядолей помещают в колбочку с водой и кипятят в течение 3-х минут, чтобы убить ферменты. Затем обе порции семядолей помещают в пробирки с раствором метиленовой синьки и оставляют на несколько минут до посинения поверхности семядолей. Затем семядоли отмывают проточной водой и заливают в пробирки дистиллированной водой так, чтобы слой ее был выше семян на 2 см. Пробирку помещают в водяную баню с температурой 30–35°C. Через несколько минут наблюдают исчезновение синей окраски у семядолей, не подвергавшихся кипячению вследствие отнятия водорода от дыхательного субстрата, присоединения его к метиленовой синьке и превращения последней в лейкосоединение. По скорости исчезновения окраски судят об активности редуцирующих ферментов.

б) Обнаружение пероксидазы в соке клубней картофеля. Пероксидаза – фермент, катализирующий окисление полифенолов индольных соединений, некоторых ароматических аминов с помощью кислорода перекиси водорода или органических перекисей, которые приобретают способность действовать как акцептор водорода. Обнаружение пероксидазы в соке клубней картофеля основано на изменении окраски при окислении полифенолов в хиноны.

Натирают на терке мезгу картофеля, отжимают из нее сок и собирают его в колбочку. Готовят четыре пробирки по 5 мл 1%-ного раствора гидрохинона. В первую пробирку добавляют 1 мл 3%-ного раствора перекиси водорода и 1 мл картофельного сока, во вторую – 1 мл 3%-ного раствора перекиси водорода, в третью – 1 мл картофельного сока, в четвертую – 1 мл картофельного сока, прокипяченного в течение минуты и 1 мл  $H_2O_2$ . При окислении гидрохинона в хинон происходит побурение раствора. Некоторое побурение картофельного сока связано с действием полифенолоксидазы, окисляющей полифенолы с участием кислорода. Отмечают окраску в пробирках и объясняют результаты опыта. Делают соответствующие выводы. Результаты записывают в таблицу 1.

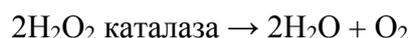
Таблица 1. Определение активности ферментов с помощью окрашивания

Вариант опыта	Состав смеси в пробирках			Окраска раствора в пробирках
	картофельный сок	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	гидрохинон	
1				
2				
3				
4	кипячен.			

### Определение активности каталазы в листьях

На предметное стекло наносят каплю перекиси водорода. В каплю помещают по листу элодеи различного возраста и тотчас наблюдают препараты под микроскопом. Перекись водорода проникает в клетки элодеи и расщепляется в ней ферментом каталазой, что заметно по активному выделению из межклетников пузырьков кислорода.

В старых листьях выделение пузырьков кислорода значительно слабее, чем в молодых. В убитых кипячением листьях элодеи выделения пузырьков кислорода нет. По количеству выделившихся из межклетников пузырьков кислорода судят об активности фермента каталазы:



Делают выводы о зависимости фермента от возраста растений.

### Литература

1. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
2. Малый практикум по физиологии растений. – М.: МГУ, 1982.
3. Нога Г.С. Опыты и наблюдения над растениями: пособие для учителей. – М.: Просвещение, 1976.
4. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
5. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
6. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.
7. Кретович В.Л. Биохимия растений. – М.: Высшая школа, 1980.

### Тема «Клетка и ее органоиды»

Любая растительная клетка представляет собой осмотическую систему, где клеточный сок можно рассматривать как раствор осмотически действующих веществ, а цитоплазматические мембраны как полупроницаемые перепонки. Являясь раствором, клеточный сок обладает потенциальным осмотическим давлением. Осмотическое давление представляет собой давление, прикладываемое для воспрепятствования передвижению воды в

сторону раствора. Оно прямо пропорционально численности частиц на единицу объема вне зависимости от их размеров и характера. Полупроницаемая перепонка проницаема для воды, но не пропускает растворенные вещества. Отделенный ею от чистой воды раствор всасывает воду с силой, численно равной его осмотическому давлению.

Различают следующие виды растворов: 1) *гипотонический раствор*, когда осмотическое давление раствора меньше осмотического давления клеточного сока, 2) *изотонический раствор*, когда осмотическое давление раствора равно осмотическому давлению клеточного сока, 3) *гипертонический раствор*, когда осмотическое давление раствора больше давления клеточного сока.

Погрузим клетку в гипертонический раствор. Вода при этом из нее выходит наружу до выравнивания осмотических давлений клеточного сока и внешнего раствора. Сначала клетка сокращается, а после полной потери тургора цитоплазма отстает от клеточной стенки по углам, затем во многих местах, и после всего округляется протопласт. Другими словами, в клетке поочередно возникают уголковый, вогнутый и выпуклый плазмолизы. Хорошо проницаемое для воды и растворенных веществ пространство, образующееся между цитоплазмой и клеточной стенкой, заполняется внешним раствором. В качестве веществ, вызывающих плазмолиз, то есть плазмолитиков обычно используются неядовитые вещества, плохо проникающие или совсем не проникающие через цитоплазму в вакуоль.

Процесс, обратный плазмолизу, ведущий к исчезновению плазмолиза, называют деплазмолизом.

### **Лабораторная работа 14** **«Явление плазмолиза и тургора»**

**Материалы и оборудование:** 1) клубни картофеля или перья зеленого лука; 2) две пробирки; 3) миллиметровая линейка; 4) концентрированный раствор NaCl или тростникового сахара.

**Ход работы.** Из клубня картофеля вырезают несколько брусочков длиной в 5 см и сечением 36–49 мм<sup>2</sup>. Брусочки тщательно измеряются миллиметровой линейкой. Часть их кладется в концентрированный раствор NaCl, а часть – в чистую воду. Через 1–1,5 часа все брусочки картофеля вынимаются и снова измеряются. Обращается внимание на напряжение ткани. Брусочки, бывшие в растворе сахара или NaCl, будут вялыми и значительно более короткими, чем те, которые находились в воде; последнее в воде немного удлинится и станут очень упругими.

Тургор можно еще показать на зеленых перьях лука. Берется кусок пера зеленого лука (15–20 см), разрезается вдоль до середины на две-четыре части и погружается в чашку с холодной водой.

Клетки быстро насыщаются водой, и полоски пера закручиваются на наружную сторону. Это происходит благодаря поступлению воды в клетки, объем которых увеличивается, и оболочки, растягиваясь, напрягаются. Так как стенки наружных поверхностных клеток закреплены кутикулой, почти не растягиваются, стенки же внутренних клеток, как не закрепленные, растягиваются сильнее, в результате чего и происходит закручивание полосок пера. Для демонстрации явлений плазмолиза перья лука менее удобны.

#### **Вопросы для самоконтроля.**

1. Что такое тургорное давление?
2. Почему брусочки, положенные в концентрированный раствор, будут вялыми и значительно короткими? Дайте объяснение этому процессу.
3. Какое значение имеет тургорное давление в жизнедеятельности растительного организма?
4. Как вы думаете, тургорное давление заставляет воду входить в клетку или выталкивает ее из клетки?
5. Какое значение имеет сосущая сила в жизнедеятельности растительного организма?

#### **Литература**

1. Сказкин В.Д. Практикум по физиологии растений. – М., 1958.
2. Гунар И.И. Практикум по физиологии растений. – М., 1972.
3. Гусев М. Малый практикум по физиологии растений. – М., 1982.
4. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
5. Рубина Б.А. Большой практикум по физиологии растений. – М., 1978.
6. Кирсанов Е. Практикум по физиологии растений. – М., 1990.
7. Филиппова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
8. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

### **Лабораторная работа 15**

#### **«Накопление нейтрально красного в вакуолях клеток нижнего эпидермиса чешуи лука»**

**Материалы и оборудование:** 1) луковица обыкновенного лука; 2) скальпель; 3) пинцет; 4) предметное стекло; 5) покровные стекла; 6) микроскоп; 7) раствор нейтрального красного 1:1000; 8) раствор азотно-кислого калия.

**Ход работы.** Делают надрезы скальпелем на выпуклой стороне чешуи лука в виде квадратиков и пинцетом, захватывая один край в месте надреза, сдирают кусочки эпидермиса. Содранный кусочек эпидермиса кладут на предметное стекло в каплю раствора нейтрального красного (1:1000) и покрывают препарат покровным стеклом. Тотчас начинают наблюдение

под микроскопом. Обнаруживают нейтрального красного, что проникает внутрь клеток, и кажется, что клетки сплошь окрашиваются в малиновый цвет. Минут через 10 начинается большое накопление краски в вакуолях. Для того чтобы точно установить, что же окрашивается краской нейтральной красной оболочки, протоплазма или вакуоля – плазмолизируют клетку раствором азотнокислого калия (раствор – 1 мол.). В результате плазмолиза обнаруживают, что отставшая от оболочки протоплазма и сама оболочка бесцветна, окрашена нейтрально красным лишь вакуоля.

Вакуоли отмерших клеток не окрашиваются, но окрашиваются в желтовато-красный цвет сама протоплазма и ядро. Нейтрально-красный – индикатор, в слабокислой среде он малинового цвета, а в слабо-щелочной – желтого.

Из работы делают выводы: относительно полупроницаемости протоплазмы для клеточного сока и относительно реакции клеточного сока живых клеток и реакции протоплазмы отмерших клеток. Подобное проникновение веществ через всю толщу протоплазмы – плазмолемму, мезоплазму и тонопласт носит название «сквозной проницаемости».

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Велика ли проницаемость цитоплазмы для нейтрального красного?
2. Какова реакция (рН) содержимого исследованных клеток?
3. Как объяснить накопление нейтрального красного в клетках?
4. В какой цвет окрашиваются живые клетки? Объясните почему?
5. В какой цвет окрашиваются мертвые клетки? Объясните почему?
6. Какое значение имеет явление плазмолиза в этом опыте?
7. В какой части клетки накапливается нейтрально-красный?
8. Какие изменения наблюдаются в клетке при воздействии аммиака?

#### **Литература**

1. Сказкин В.Д. Практикум по физиологии растений. – М., 1958.
2. Гунар И.И. Практикум по физиологии растений. – М., 1972.
3. Гусев М. Малый практикум по физиологии растений. – М., 1982.
4. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
5. Рубина Б.А. Большой практикум по физиологии растений. – М., 1978.
6. Кирсанов Е. Практикум по физиологии растений. – М., 1990.
7. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
8. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

## Лабораторная работа 16 «Разделение пигментов»

**Материалы и оборудование:** 1) спиртовая вытяжка пигментов листа; 2) бензин; 3) вода; 4) пипетка; 5) делительная воронка.

**Ход работы.** Полученная спиртовая вытяжка пигментов листа представляет смесь нескольких пигментов: двух зеленых, собственно хлорофиллов и двух желтых, каротина и ксантофилла. Для разделения существует несколько методов. Первый – метод Крауса, основан на различной растворимости пигментов листа в спирте и бензине. Наливаем в пробирку 4–5 см<sup>3</sup> спиртовой вытяжки хлорофилла, приливаем к ней 6–8 см<sup>3</sup> бензина или петролейного эфира (т.е. в 1,5 раза больше количества по объему) и несколько капель воды (2–5), закрываем большим пальцем и взбалтываем ее в течение 4–5 мин., затем даем отстояться; жидкость в пробирке разделится на два слоя: бензин, как более легкий, будет вверху, а спирт – внизу. Спиртовой слой будет окрашен в желтый цвет от присутствия в нем ксантофилла, а верхний – бензиновый слой, будет зеленый от хлорофилла. Второй желтый пигмент – каротин – также перейдет в бензиновый слой.

Если разделение пигментов идет плохо, то нужно добавить еще воды и еще хорошенько взболтать. От избытка воды нижний спиртовой слой может помутнеть, тогда надо прибавить немного спирта, перемешать и дать отстояться.

Для отделения пигментов удобнее всего пользоваться делительной цилиндрической воронкой. Сливаем нижний спиртовой слой в чистую сухую пробирку, снова приливаем бензин, хорошо взбалтываем, даем отстояться, опять сливаем и т.д., пока не получится совершенно чистый раствор ксантофилла. Ксантофилл имеет полосы поглощения только в синеволетовой части спектра. Черная полоса в красных лучах должна отсутствовать, так как ее дают зеленые пигменты.

С листьями растений, обильно осаждающих зеленые кристаллы, реакция Крауса дает обратный результат: нижний слой зеленый, а верхний желтый, но не от ксантофилла, а от каротина (по Бородину).

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. К спиртовой вытяжке из зеленого листа добавили вдвое больший объем бензина, тщательно взболтали и дали отстояться. Какова будет окраска спирта и бензина? Как это объяснить?

2. Какие три группы пигментов вы знаете, каково их значение?

3. Почему хлорофилл переходит в бензиновый, а ксантофилл – в спиртовой слой?

4. Почему каротин не остается в спиртовом слое, а переходит в бензиновый слой? Объясните этот процесс.

5. На какие группы делятся фикобилины и где они синтезируют?

6. Какие лучи поглощают фикобилины?

## Литература

1. Сказкин В.Д. Практикум по физиологии растений. – М., 1958.
2. Гунар И.И. Практикум по физиологии растений. – М., 1972.
3. Гусев М. Малый практикум по физиологии растений. – М., 1982.
4. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
5. Рубина Б.А. Большой практикум по физиологии растений. – М., 1978.
6. Кирсанов Е. Практикум по физиологии растений. – М., 1990.
7. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
8. Филипцова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.

## Лабораторная работа 17 «Разделение желтых пигментов»

**Материалы и оборудование:** 1) спиртовая вытяжка из зеленых листьев; 2) концентрированный раствор барита; 3) колбочка; 4) воронка; 5) фильтровальная бумага; 6) этиловый спирт; 7) петролейный спирт; 8) стеклянная палочка.

**Ход работы.** При разделении пигментов по методу Крауса нельзя получить полного разделения пигментов. Так, например, в зеленом бензиновом слое остается большая часть каротина. Сравнительно легко отделить желтые пигменты, пожертвовав хлорофиллом.

Спиртовая вытяжка зеленых листьев осаждается концентрированным раствором барита и оставляется в таком виде в течение 12–24 часов. Полученный зеленый осадок содержит желтые пигменты. Осадок фильтруют через бумажный фильтр. Фильтрат выбрасывают. Под воронку ставят чистую колбочку и осадок на фильтре в воронке промывают несколько раз крепким этиловым спиртом. Полученный спиртовой фильтрат содержит желтые пигменты. Его фильтруют еще раз и прибавляют к нему петролейный эфир. В раствор петролейного эфира переходит каротин, а в спиртовом растворе внизу остается ксантофилл. Хлорофилл же при этом разрушается едкой щелочью и остается на фильтре в форме нерастворимого баритового соединения. Вся манипуляция очень проста и проходит без всяких затруднений.

### Вопросы для самоконтроля:

1. На какие группы делятся каротиноиды и какую функцию они выполняют?
2. Какое значение имеют каротиноиды в жизнедеятельности человека и животных?
3. В каких листьях много каротина?
4. Какую роль каротиноиды выполняют по отношению к хлорофиллу?
5. Какие лучи поглощают желтые пигменты?
6. Какие пигменты имеются в хлоропластах?

7. Почему хлорофилл разрушается при воздействии едкой щелочью?
8. Какие лучи поглощаются хлорофиллом наиболее сильно?
9. Какие участки спектра поглощаются хлорофиллом наиболее слабо?
10. Каково значение каротиноидов в процессе фотосинтеза?

### Литература

1. Сказкин В.Д. Практикум по физиологии растений. – М., 1958.
2. Гунар И.И. Практикум по физиологии растений. – М., 1972.
3. Гусев М. Малый практикум по физиологии растений. – М., 1982.
4. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
5. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
6. Филипцова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

## Лабораторная работа 18

### «Обнаружение фотосинтеза методом крахмальной пробы»

**Материалы и оборудование:** 1) пеларгония, выдержанная в течение 2–3 суток в темноте; 2) спирт; 3) раствор I в KI (концентрированный раствор, разбавленный в 3 раза водой); 4) 30% раствор щелочи; 5) ножницы; пинцет; 6) фарфоровая чашка; 7) водяная баня; 8) электроплитка; 9) цветные карандаши; 10) картон; 11) скрепки.

**Ход работы.** Обильно политое растение выдержать 2–3 дня в темноте, предварительно закрыв лист с обеих сторон кусками картона с вырезанной в них фигуркой и закрепив их канцелярскими скрепками. Через три дня осуществить проверку полноты обескрахмаливания листа. Для этого необходимо срезать кусочек листа, поместив его в пробирку с водой, которую прокипятить с целью уничтожения клеток. В дальнейшем вода сливается и добавляется спирт, который также кипятится на водяной бане до полного извлечения пигментов. Производить нагрев необходимо очень осторожно, так как бурное кипение может привести к выплескиванию его из пробирки. Спирт сливается. Затем требуется размягчить кусочек листа, для чего надо налить на него небольшое количество воды, так как спирт делает ткани хрупкими. Потом требуется поместить лист в фарфоровую чашку и залить раствором йода. Отсутствие синего окрашивания говорит о том, что в листе нет крахмала.

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Дать определение фотосинтезу и написать общее уравнение.
2. Какую роль играет фотосинтез в жизнедеятельности растений?
3. Что такое химизм фотосинтеза? Объясните этот процесс.

4. Как доказать при помощи метода крахмальной пробы необходимость света для фотосинтеза?

5. Известно, что днем зеленые растения обогащают атмосферу кислородом, а ночью диоксидом углерода. Как это объяснить?

### Литература

1. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.

5. Рубина Б.А. Большой практикум по физиологии растений. – М., 1978.

3. Кирсанов Е. Практикум по физиологии растений. – М., 1990.

4. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.

5. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.

6. Филиппова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.

7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

## Лабораторная работа 19

### «Определение интенсивности транспирации у срезанных листьев при помощи торсионных весов»

**Материалы и оборудование:** 1) проростки овса; 2) торсионные весы; 3) ножницы; 4) подставка для подвешивания листьев.

**Ход работы.** Установить торсионные весы на подставке весов строго горизонтально по уровню с помощью двух винтов. Проверить нулевую точку и приступить к взвешиванию. На крючок коромысла сбоку весов в закрытой камере подвесить другой крючок и определить его вес. Для чего освободить коромысло весов передвижением закрепительного рычага вправо. Повернуть указатель веса рычагом натяжения влево до совмещения указателя равновесия с чертой равновесия. В таком положении указатель веса должен показывать на шкале вес груза. Повернуть закрепительный рычаг влево (стрелка показывает «закрыто») и возвратить указатель веса к нулевому делению на шкале.

Затем производят определение интенсивности транспирации, для чего с растения срезать лист, надеть его на крючок и подвесить на коромысло весов. Быстро взвесить. Подвесить лист на подставку. Так можно взвешивать листья одного и того же яруса с 10 растений. Через 5 минут после произведения взвешивания первого листа повторно взвесить все листья в первоначальном порядке.

Вес листьев определять вычитанием из показаний шкалы веса крючка. Убыль в весе листьев за время между первым и вторым взвешиванием будет показывать количество испарившейся за этот период воды. По резуль-

татам рассчитать количество испарившейся из 1 г сырых листьев за 1 час воды.

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Какие физиологические показатели могут быть использованы для оптимизации водного режима растений?
2. Что такое водный баланс и водный дефицит?
3. Какие изменения наблюдаются у растений при адаптации к дефициту воды?
4. Какие виды транспирации вы знаете и какова их роль в растениях?
5. Что такое интенсивность транспирации?
6. От каких факторов зависит интенсивность транспирации?
7. Как определяется продуктивность транспирации?
8. Как объяснить завядание листьев в жаркий летний день при достаточном количестве влаги в почве и ликвидацию водного дефицита ночью?
9. Как объяснить «плач» березы при поранении ствола ранней весной и отсутствие этого явления в летнее время?
10. У некоторых комнатных растений незадолго перед дождем появляются капли воды на кончиках листьев. Как объяснить это явление?

#### **Литература**

1. Сказкин В.Д. Практикум по физиологии растений. – М., 1958.
3. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
4. Рубина Б.А. Большой практикум по физиологии растений. – М., 1978.
5. Кирсанов Е. Практикум по физиологии растений. – М., 1990.
6. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
7. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.

### **Лабораторная работа 20**

#### **Наблюдение за движением устьиц под микроскопом**

**Материалы и оборудование:** 1) свежие листья традесканции или амареллиса; 2) микроскоп; 3) предметные и покровные стекла; 4) лезвие; 5) пинцет; 6) препаровальные иглы; 7) стеклянная палочка; 8) фильтровальная бумага; 9) 5%-ный раствор глицерина; 10) дистиллированная вода.

**Ход работы.** Перед началом опыта растения хорошо поливают и выдерживают на ярком свете 1,5–2 часа, чтобы вызвать раскрытие устьиц.

Готовят срез эпидермиса листа, помещают его на предметное стекло в каплю 5%-ного раствора глицерина, закрывают покровным стеклом и сразу рассматривают под микроскопом. В замыкающих клетках происходит плазмолиз, устьичные щели закрываются. Заменяют глицерин под покровным стеклом дистиллированной водой и наблюдают открывание устьиц.

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Что такое устьица?
2. Какова его роль в жизнедеятельности растений?
3. Какую функцию она выполняет?
4. Испаряется ли вода через устьица и как?
5. От чего зависит открывание и закрывание устьиц?
6. Какие типы устьиц вы знаете?
7. Чем отличается структура устьиц однодольных и двудольных растений?

### **Литература**

1. Сказкин В.Д. Практикум по физиологии растений. – М., 1958.
2. Гунар И.И. Практикум по физиологии растений. – М., 1972.
3. Кирсанов Е. Практикум по физиологии растений. – М., 1990.
4. Арланд А. Использование физиологических показателей в сельском хозяйстве. «Физиология растений», т. 7, вып. 2, 1960.
5. Баславская С.С., Трубецкова О.М. Практикум по физиологии растений. – М.: Изд. МГУ, 1964.
6. Иванов Л.А., Силина А.А., Цельникер Ю.Л. О методе быстрого взвешивания для определения транспирации в естественных условиях // Ботанический журнал. – 1950. – №2. – Т. 35.
7. Слейчер Р. Водный режим растений «Мир». – М., 1970.

### **Лабораторная работа 21**

#### **Определение интенсивности дыхания семян в закрытом сосуде**

**Материалы и оборудование:** 1) прорастающие семена пшеницы; 2) 0,1 н. раствор барита; 3) 0,1 н. раствор щавелевой кислоты; 4) 1% раствор фенолфталеина; 5) весы с разновесами; 6) 4 конические колбы на 250 мл с пробками, снабженными трубкой с натронной известью; 7) 2 марлевых мешочка.

**Ход работы.** В марлевый мешочек помещают 4 г прорастающих семян пшеницы. В две конические колбы наливают с помощью бюретки по 10 мл 0,1 н.  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  и закрывают их пробками в одну колбу, приоткрыв ее, быстро подвешивают на крючок пробки мешочек с семенами, другую колбу используют в качестве контроля. Оставляют обе колбы на 1 час при комнатной температуре ( $20^\circ\text{C}$ ).

В течение опыта периодически осторожно покачивают колбы, чтобы разрушить пленку  $\text{BaCO}_3$ , образующуюся на поверхности барита, препятствующую полноте поглощения  $\text{CO}_2$ . Затем вынимают из колбы мешочек с семенами, добавляют 3 капли фенолфталеина и оттитровывают барит 0,1 н. щавелевой кислотой до светло-розового окрашивания, исчезающего от одной капли кислоты. Также оттитровывают барит в контрольной колбе. При титровании колбы закрывают пробкой, через которую проходит кончик пипетки, присоединенный к бутылке с баритом.

Интенсивность дыхания рассчитывают по формуле:

$$I_d = (a - b) * K * 2.2/pt,$$

где: а – количество миллилитров 0,1 н. щавелевой кислоты, израсходованной на титрование барита в контрольном варианте;

б – количество миллилитров 0,1 н. щавелевой кислоты, пошедшей на титрование раствора барита в опытном варианте;

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

2,2 – количество миллиграммов  $CO_2$ , соответствующей 1 мл 0,1 н раствора щавелевой кислоты;

п – вес сухих семян, г.

Параллельно определяют дыхание семян при температуре 30°C.

#### **Вопрос для самоконтроля:**

1. Что такое дыхание растений?
2. Какое значение играет дыхание в жизни растений?
3. Что такое интенсивность дыхания?
4. От каких факторов зависит интенсивность дыхания? Приведите примеры.
5. Объясните, почему интенсивность дыхания растений резко возрастает при увеличении содержания  $O_2$  от 1 до 5–6%, а при дальнейшем повышении содержание  $O_2$  почти не изменяется.

#### **Литература**

1. Сказкин В.Д. Практикум по физиологии растений. – М., 1958.
2. Гунар И.И. Практикум по физиологии растений. – М., 1972.
3. Гусев М. Малый практикум по физиологии растений. – М., 1982.
4. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
5. Рубина Б.А. Большой практикум по физиологии растений. – М., 1978.
6. Кирсанов Е. Практикум по физиологии растений. – М., 1990.
7. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
8. Филипцова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.

### **Лабораторная работа 22**

#### **Потеря сухого вещества при прорастании семян**

**Материалы и оборудование:** 1) семена гороха; 2) весы; 3) разновес; 4) опилки лиственного дерева, прокипяченные с водой и отжатые для удаления экстрактивных веществ; 5) тарелка; 6) сушильный шкаф; 7) эксикатор; 8) бюкс; 9) стаканы; 10) фильтровальная бумага; 11) кристаллизатор.

**Ход работы.** Уравновесить на весах 10 одинаковых семян другими десятью такими же семенами. Одну порцию смочить на 1–2 ч. небольшим

количеством воды для набухания. Вторую порцию взвесить, поместить в бюкс, высушить при температуре 130 (не менее 2 ч.), охладить в эксикаторе и снова взвесить.

Наполнить стакан влажными и отжатыми от избытка воды опилками, отсыпать часть опилок, разложить набухшие семена и покрыть их сверху опилками, которые следует слегка уплотнить. Поместить стакан в темноту и по мере подсыхания опилок поливать водой.

Через 1–2 недели извлечь проростки из опилок, тщательно промыть корни, обсушить корни фильтровальной бумагой и взвесить. Поместить проростки в пакет из фильтровальной или газетной бумаги, высушить при температуре 100–105 до абсолютно сухого состояния (для этого требуется 4–6 ч.), охладить в эксикаторе и взвесить. Если проросли не все семена, то учитывают только проросшие, а затем пересчитывают сырую и сухую массу проростков на 10 экземпляров.

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Какие пути дыхательного обмена вы знаете?
2. Что такое анаэробная и аэробная фаза? Как протекают эти процессы?
3. Какие органические вещества используются при дыхании?
4. Как выявлена генетическая связь процессов между дыханием и брожением?
5. Какие органы растений характеризуются высокой интенсивностью? Привести примеры.

#### **Литература**

1. Сказкин В.Д. Практикум по физиологии растений. – М., 1958.
2. Гунар И.И. Практикум по физиологии растений. – М., 1972.
3. Кирсанов Е. Практикум по физиологии растений. – М., 1990.
4. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
5. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
6. Филипцова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

### **Лабораторная работа 23**

#### **«Антагонизм ионов»**

**Материалы и оборудование:** 1) наклюнувшиеся зерна пшеницы или ячменя; 2) растворы  $KCl$  9 г/л и  $CaCl_2$  6.7 г/л (оба раствора должны быть приготовлены из химически чистых солей на бидистиллированной воде); 3) бидистиллированная вода; 4) фарфоровая чашка; 5) чашки Петри (3 шт.); 6) пипетки градуированные на 10 мл (2 шт.); 7) пинцет; 8) ножни-

цы; 9) фильтровальная бумага; 10) карандаш по стеклу; 11) миллиметровая линейка.

**Ход работы.** Набрать в фарфоровую чашку 30 одинаковых наклюнувшихся семян и 3–4 раза промыть их бидистиллированной водой. В три чашки Петри, сполоснув бидистиллированной водой, положить вырезанную размером с чашки фильтровальную бумагу и положить в них пинцетом по 10 семян. Пронумеровав чашки карандашом по стеклу, налить в 1-ую чашку 15 мл раствора KCl, во 2-ю – 15 мл раствора CaCl<sub>2</sub>, в 3-ю – 13 мл раствора KCl и 2 мл раствора CaCl<sub>2</sub>. Прикрыть чашки крышками, оставив их при комнатной температуре. Каждые два дня осуществлять вентиляцию чашки, открывая крышки на несколько секунд.

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Какое явление называют антагонизмом ионов? Привести примеры.
2. При какой реакции среды преобладает катионный, а при какой анионный обмен?
3. Чем объясняется неодинаковый рост проростков на растворах отдельных солей и на смеси, содержащей одно- и двухвалентные катионы?
4. Какие органы растения сильнее реагируют на ионный состав среды?

#### **Литература**

1. Сказкин В.Д. Практикум по физиологии растений. – М., 1958.
2. Гунар И.И. Практикум по физиологии растений. – М., 1972.
3. Гусев М. Малый практикум по физиологии растений. – М., 1982.
4. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
5. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
6. Филипцова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
7. Плешков К. Биохимия сельскохозяйственных культур. – М.: Колос, 1975.

### **Лабораторная работа 24 Учет роста методом меток**

**Материалы и оборудование:** 1) проростки гороха, бобов или кукурузы с корешками длиной около 2 см (для получения прямых корней высадить наклюнувшиеся семена в глубокий сосуд с влажными опилками, в которых палочкой сделать углубления для свободного вертикального роста корней); 2) проростки подсолнечника или фасоли, выращенные в темноте в горшочках или стаканчиках с почвой, с подсемядольным коленом длиной 3–4 см; 3) черная тушь в тигельке (лучше всего готовить растиранием сухой туши с 5%-ным раствором декстрина или альбумина); 4) стеклянная банка с этикеткой, закрытая корковой пробкой; 5) фильтровальная бумага; 6) ножницы; 7) тонкие булавки (3 шт.); 8) заостренная спичка; 9) полоска

миллиметровой бумаги; 10) пинцет; 11) тарелка; 12) миллиметровая линейка.

**Ход работы.** *Определение зоны роста стебля.* Нанести на подсемядольное колено трех проростков подсолнечника или фасоли метки тушью на расстоянии 2 мм одна от другой, начиная от места прикрепления семядолей. Полить растения и поместить их в темноту. Через сутки измерить расстояния между метками и определить прирост каждого участка, вычитая из полученных величин исходные интервалы (2 мм).

**Вопросы для самоконтроля:**

1. Какую роль играет рост и развитие в жизни растений?
2. На какие фазы принято делить рост клеток? Охарактеризуйте эти фазы.
3. Что такое зона роста?
4. Какие факторы влияют на рост растений?
5. Какие фитогормоны вам известны и какую роль они играют в жизни растений?
6. Каков механизм действия фитогормонов?

**Литература**

1. Гусев М. Малый практикум по физиологии растений. – М., 1982.
2. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
3. Рубина Б.А. Большой практикум по физиологии растений. – М., 1978.
4. Кирсанов Е. Практикум по физиологии растений. – М., 1990.
5. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
6. Филипцова Г.Г., Смолич И.И. Основы биохимии растений: Курс лекций. – БГУ, 2004. – 136 с.
7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

**Лабораторная работа 25**  
**Действие света на рост растений**

**Материалы и оборудование:** 1) наклюнувшиеся семена гороха, бобов или других двудольных растений; 2) вазоны или фаянсовые стаканы с влажным песком или опилками (3 шт.); 3) стеклянная палочка; 4) миллиметровая линейка; 5) цветные карандаши.

**Ход работы.** Высадить в три сосуда с влажным песком или опилками по 5–6 наклюнувшихся семян гороха или другого двудольного растения. Поместить два сосуда в полную темноту, а третий – на свет и ежедневно поливать. Через 7 дней выставить один из сосудов, находившихся в темноте, на свет.

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Чем отличаются этилированные растения от нормальных?
2. Как влияет свет на отдельные фазы роста клеток?
3. Устраняется ли этиоляция после выставления на свет растения, выросшего в темноте?
4. Чем различается прорастание семян однодольных и двудольных растений?
5. Какую роль выполняют семядоли при надземном прорастании семян?
6. Что собой представляет проросток?
7. Чем различаются проростки разных растений?
8. Что такое всхожесть семян?

### **Литература**

1. Сказкин В.Д. Практикум по физиологии растений. – М., 1958.
2. Гусев М. Малый практикум по физиологии растений. – М., 1982.
3. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983.
4. Кирсанов Е. Практикум по физиологии растений. – М., 1990.
5. Филиппович В.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – Просвещение, 2006. – С. 35.
6. Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2004. – 336 с.
7. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений: Учебник для студентов вузов. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	3
Правила техники безопасности при работе в лаборатории .....	4
Принципы приготовления растворов .....	7
Элементы цитохимии .....	8
Фиксация .....	9
Химические компоненты клеток .....	10
Тема «Белки и аминокислоты» .....	11
<i>Лабораторная работа 1. «Выделение запасных белков и изучение их свойств» .....</i>	<i>11</i>
Тема «Углеводы» .....	12
<i>Лабораторная работа 2. «Обнаружение запасных сахаров в растительном материале» .....</i>	<i>12</i>
<i>Лабораторная работа 3. «Обнаружение химических компонентов крахмала» .....</i>	<i>13</i>
Тема «Липиды» .....	15
<i>Лабораторная работа 4. «Омыление жира с выделением свободных жирных кислот» .....</i>	<i>15</i>
<i>Лабораторная работа 5. «Качественное исследование жира» .....</i>	<i>16</i>
Тема «Лигнин» .....	17
<i>Лабораторная работа 6. «Цветные реакции на лигнин» .....</i>	<i>18</i>
Тема «Фосфаты органические» .....	18
<i>Лабораторная работа 7. «Гидролиз нуклеопротеидов дрожжей» .....</i>	<i>19</i>
Тема «Ферменты» .....	20
<i>Лабораторная работа 8. «Изучение свойств ферментов» .....</i>	<i>20</i>
Тема «Фотосинтез» .....	22
<i>Лабораторная работа 9. «Образование крахмала в листьях на свету» .....</i>	<i>22</i>
Тема «Преобразование запасных веществ» .....	24
<i>Лабораторная работа 10. «Кислотный гидролиз крахмала» .....</i>	<i>24</i>
<i>Лабораторная работа 11. «Выделение жира из семян различных растений» .....</i>	<i>27</i>
Тема «Дыхание растений» .....	28
<i>Лабораторная работа 12. «Дыхание прорастающих семян» .....</i>	<i>28</i>
<i>Лабораторная работа 13. «Ферментные системы дыхания» .....</i>	<i>31</i>
Тема «Клетка и ее органоиды» .....	32
<i>Лабораторная работа 14. «Явление плазмолиза и тургора» .....</i>	<i>33</i>
<i>Лабораторная работа 15. «Накопление нейтрально-красного в вакуолях клеток нижнего эпидермиса чешуи лука» .....</i>	<i>34</i>
<i>Лабораторная работа 16. «Разделение пигментов» .....</i>	<i>36</i>
<i>Лабораторная работа 17. «Разделение желтых пигментов» .....</i>	<i>37</i>
<i>Лабораторная работа 18. «Обнаружение фотосинтеза методом крахмальной пробы» .....</i>	<i>38</i>

<i>Лабораторная работа 19. «Определение интенсивности транспирации у срезанных листьев при помощи торсионных весов» .....</i>	<i>39</i>
<i>Лабораторная работа 20. Наблюдение движения устьиц под микроскопом .....</i>	<i>40</i>
<i>Лабораторная работа 21. Определение интенсивности дыхания семян в закрытом сосуде .....</i>	<i>41</i>
<i>Лабораторная работа 22. Потеря сухого вещества при прорастании семян .....</i>	<i>42</i>
<i>Лабораторная работа 23. Антагонизм ионов .....</i>	<i>43</i>
<i>Лабораторная работа 24. Учет роста методом меток .....</i>	<i>44</i>
<i>Лабораторная работа 25. Действие света на рост растений .....</i>	<i>45</i>

**Е.Т. Ержанов**

**ПРАКТИКУМ  
ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И БИОХИМИИ**  
учебно-методическое пособие

Подписано в печать 29.08.2016.  
Формат 29,7 x 42½. Бумага офсетная.  
Гарнитура Times New Roman.  
Объем 2,6 усл. печ. л. Тираж 100 экз.  
Заказ № 0994.

Научно-издательский центр  
Павлодарского государственного педагогического института  
140002, г. Павлодар, ул. Мира, 60