



Министерство сельского хозяйства  
Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
профессионального образования  
«Самарская государственная  
сельскохозяйственная академия»

Кафедра «Садоводство, ботаника и  
физиология растений»

**В. М. Царевская, М. В. Коваленко, Г. К. Марковская**

# **ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ**

## **Методические указания и рабочая тетрадь для выполнения лабораторных работ**

для студентов, обучающихся по направлению *110500.62 «Садоводство»*

Студент\_\_\_\_\_

Курс\_\_\_\_\_ Группа\_\_\_\_\_

Кинель  
РИЦ СГСХА  
2013

УДК 581.1.(07)  
ББК 41.2 Р  
Ф-50

**Царевская, В. М.**

**Ф-50** Физиология растений : методические указания и рабочая тетрадь /  
В. М. Царевская, М. В. Коваленко, Г. К. Марковская. – Кинель : РИЦ  
СГСХА, 2013. – 76 с.

В методических указаниях приведены подробные описания структуры и методики проведения лабораторных работ, даны задания для самостоятельной работы по основным изучаемым темам, представлен перечень вопросов для подготовки к экзамену и рекомендуемая литература.

Методические указания предназначены для студентов II курса агрономического факультета, обучающихся по направлению подготовки: 110500.62 «Садоводство», профиль подготовки «Декоративное садоводство и ландшафтный дизайн».

© ФГБОУ ВПО Самарская ГСХА, 2013  
© Царевская В. М., Коваленко М. В., Марковская Г. К., 2013

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Физиология растений – наука, изучающая процессы жизнедеятельности и их биохимические основы. Основными разделами этой дисциплины являются: физиология и биохимия растительной клетки, фотосинтез, дыхание, водный режим, минеральное питание, рост и развитие растений, физиология формирования урожая и его качество, устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды.

Методические указания и рабочая тетрадь для выполнения лабораторных работ по дисциплине «Физиология растений» включает структуру и методики опытов, проводимых на аудиторных занятиях по 17 темам. По каждой теме дано краткое теоретическое введение, основные физиологические и биохимические понятия, вопросы для самоконтроля, указания по методике проведения лабораторных работ и рекомендации по оформлению полученных результатов. Это позволяет качественно освоить материал темы, самостоятельно проконтролировать полученные знания, приобрести навыки в выполнении опытов.

Целью методических указаний является изучение 17 тем по физиологии растений и более эффективное и продуктивное использование учебного времени студентов.

Задачи методических указаний:

- дать основные понятия и термины по изучаемым темам;
- стимулировать самостоятельное творческое мышление;
- организовать самостоятельную работу студентов.

В результате изучения дисциплины «Физиология растений» студент должен:

*знать:*

- анатомо-морфологическую локализацию физиолого-биохимических процессов в растениях, их ход и механизмы регуляции на всех структурных уровнях организации растительного организма;

- зависимость хода физиологических процессов от внутренних и внешних факторов среды;

- принципы формирования величины и качества урожая основных сельскохозяйственных культур;

- воздействие на растения факторов антропогенного происхождения;

*уметь:*

- пользоваться органолептическими и биохимическими показателями в процессе прогнозирования урожая и его качества;

*владеть:*

- современными методами исследования и получения информации о ходе физиологических процессов в растительном организме, формировании биохимического качества урожая;

- навыками обработки и анализа получаемых экспериментальных данных.

## Тема 1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КЛЕТКИ

**Цель занятия.** Ознакомиться с локализацией основных органических веществ в клетке, применяя простейшие методы качественного анализа.

В состав клетки входят органические и минеральные вещества. Основными органическими веществами в составе растительной клетки являются белки, жиры, углеводы и нуклеиновые кислоты.

**Белковые вещества** представляют собой высокомолекулярные органические соединения, построенные из аминокислот. Белки выполняют в клетке конституционные, каталитические, защитные, транспортные и запасные функции. Наличие в молекуле белка различных свободных групп и радикалов – аминных ( $-\text{NH}_2$ ), карбоксильных ( $-\text{COOH}$ ), гидроксильных ( $-\text{OH}$ ), сульфгидрильных ( $-\text{SH}$ ), дисульфидных ( $-\text{S-S-}$ ) и др. обуславливает огромное разнообразие реакционных возможностей, как отдельных структурных элементов белка, так и всей белковой молекулы. Это используется для выявления и количественного определения белков. Белки в различных количествах находятся во всех органах растений. В вегетативных органах количество белков обычно достигает 5-15% от веса сухой массы, в семенах злаков 10-20%, в семенах бобовых и масличных культур – 25-35%.

**Нуклеиновые кислоты** представляют собой органические кислоты с огромным молекулярным весом. Они играют важную роль в передаче наследственных свойств живых организмов и в процессе синтеза белка. Различают два вида нуклеиновых кислот: дезоксирибонуклеиновую кислоту – ДНК, которая в основном локализована в клеточном ядре и рибонуклеиновую кислоту – РНК, которая находится и в ядре, и в цитоплазме клетки. При гидролизе нуклеиновые кислоты дают пуриновые и пиримидиновые основания, сахар (пентозу), рибозу и дезоксирибозу и фосфорную кислоту.

**Жиры и жироподобные вещества.** Жиры (триглицериды) – тройные эфиры глицерина и трех молекул жирных кислот. Жиры чаще выполняют функции запасных веществ, конституционную и транспортную. Жироподобные вещества (липоиды) отличаются от жиров тем, что один из гидроксильных глицерина замещен не жирной кислотой, а каким-либо другим гидрофильным веществом, например, остатком фосфорной кислоты (фосфолипиды), к которому в свою очередь может присоединиться какое-либо органическое основание (например, холин). Некоторые из липоидов вместо глицерина включают в молекулу другой многоатомный спирт (например, инозит). Липоиды чаще выполняют функции конституционных (липопротеидная мембрана), реже запасных (фосфолипиды) или защитных (воска) веществ. Общим, что объединяет жиры и липоиды, является их растворимость в органических растворителях: эфире, хлороформе, сероуглероде, бензине и не растворимость в воде.

### Рекомендуемая литература

Плешков, Б.А. Биохимия сельскохозяйственных растений. – М. : Агропромиздат, 1987. – С. 213-218, 272-291, 294-307.

Третьяков, Н.Н. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений. – М.: Колос, 2005. – С. 31-58, 64-67.

**Материалы и оборудование.** 1. Микроскопы. 2. Предметные и покровные стекла. 3. Лезвия. 4. Колбы с обратным холодильником. 5. Водяная баня. 6. Чашки Петри. 7. Пинцеты. 8. Спиртовки. 9. Нитки. 10. Свежие листья фасоли, кукурузы. 11. Замоченные семена кукурузы. 12. Раствор медного купороса, 7%. 13. Раствор щелочи 10%. 14. Водный раствор нингидрина 0,5%. 15. Спирт этиловый, 96%. 16. Реактив НАДИ. 17. Раствор Судан III. 18. Глицерин.

Работы выполняются в порядке их расположения, используя свободное время для подготовки следующей работы.

## Работа 1.1. ОБНАРУЖЕНИЕ БЕЛКА В ЛИСТЬЯХ (ПО ЧАЙЛАХЯНУ)

Метод основан на проведении биуретовой реакции. Эта реакция характерна для веществ, содержащих пептидную связь (-CO-NH-). При обработке щелочного раствора белка раствором медного купороса появляется фиолетовое или красно-фиолетовое окрашивание.

**Методика выполнения.** К черешку листа привязать нитку. Листья погрузить на 1-2 мин в кипящую воду, затем перенести в колбу с 96% спиртом. Колбу с обратным холодильником погрузить в горячую водяную баню для экстрагирования хлорофилла. Через 0,5-1 ч наступает полное обесцвечивание листа. Обесцвеченные листья смочить дистиллированной водой и расправить в чашке Петри. Провести биуретовую реакцию, для чего листья на 1 ч залить 7% раствором медного купороса, промыть дистиллированной водой и залить 10% щелочью.

Листья приобретают фиолетовую окраску, усиливающуюся в течение часа, что указывает на присутствие белков. По интенсивности полученной окраски можно определить относительное содержание белков в разных частях листа и листьях различных культур, оценивая его по 5-бальной системе.

### Оформление результатов опыта

- 1) Зарисовать исследуемые листья.

Рис. 1.1. Лист \_\_\_\_\_

Рис. 1.2. Лист \_\_\_\_\_

- 2) Заполнить таблицу 1.

Таблица 1

### Окраска листьев после обработки по Чайлахяну

Культура	Окраска	Оценка количества белка в баллах

- 3) Сделать выводы. В каких частях листа, и у каких растений содержание белка выше?

---



---



---



---



---

## Работа 1.2. ОБНАРУЖЕНИЕ БЕЛКА НА СРЕЗАХ ТКАНИ

Метод основан на получении характерных цветных реакций на тонких срезах тканей, путем просмотра полученных препаратов под микроскопом.

**а) Биуретовая реакция.** Тонкий срез семени кормовых бобов поместить на предметное стекло в каплю 7% раствора медного купороса на 20-30 мин. Тщательно убрать этот раствор с помощью фильтровальной бумаги и промыть срез водой. Обработать 10% раствором щелочи до появления фиолетовой окраски. Препарат покрыть покровным стеклом и рассматривать под микроскопом.

**б) Нингидриновая реакция** служит для обнаружения как свободных, так и связанных аминокислот. Основана на образовании окрашенного соединения в результате сдваивания молекул нингидрина и присоединения к ней азота аминокислоты.

**Методика выполнения.** Кусочек эпидермиса с мясистой чешуи лука поместить в 0,5% раствор нингидрина на предметное стекло. Подогреть препарат на спиртовке до появления синей окраски. Покрывать препарат покровным стеклом и рассмотреть под микроскопом.

#### Оформление результатов опыта

1) Зарисовать препараты Наименование ткани \_\_\_\_\_

Рис. 1.3. Окраска нингидрином

Рис. 1.4. Биуретовая реакция

2) Можно ли выделить в клетке места преимущественной локализации белков? Почему? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

---

### Работа 1.3. ОБНАРУЖЕНИЕ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В КЛЕТКЕ

В цитохимии нуклеиновых кислот широко используют смесь двух красителей – пиронина и метилового зеленого. Пиронин адсорбируется с РНК, метиловый зеленый избирательно связывается с ДНК. Это дает возможность одновременно выявить локализацию в клетке РНК и ДНК.

**Методика выполнения.** С вогнутой стороны мясистой чешуи лука снять кусочек эпидермиса и поместить его в каплю красителя на предметное стекло на 5-20 мин. Оттянуть краску фильтровальной бумагой, добавляя с противоположной стороны воду. Препарат покрыть покровным стеклом и рассматривать под микроскопом сначала при малом, а затем при среднем увеличении. Под действием красителя РНК окрашивается в малиновый цвет, ДНК – в синий. На хорошо приготовленных препаратах в ядре можно рассмотреть ядрышко, имеющее иную, чем ядро, окраску.

#### Оформление результатов опыта

1) Крупным планом зарисовать несколько клеток после окраски их пиронином плюс метиловый зеленый.

2) Сделать выводы о локализации ДНК и РНК в клетке

---

---

## Работа 1.4. ОБНАРУЖЕНИЕ ЖИРОВ И ЛИПОИДОВ

Жиры и близкие к ним вещества могут быть обнаружены с помощью специальных красителей. Чаще используется Судан III. Окраска, по-видимому, основана на растворении этой краски в жирах и жироподобных веществах.

**Методика выполнения.** Вдоль замоченного зерна кукурузы, через зародыш, сделать срезы. Первый срез выбрасывается, второй используется для изготовления препарата. Срез поместить на предметное стекло в каплю красителя на 10-20 мин. Краситель оттянуть фильтровальной бумагой, капнуть каплю глицерина, покрыть покровным стеклом и рассматривать под бинокулярным микроскопом. Если окраска проявляется слабо, слегка подогреть препарат над спиртовкой.

### Оформление результатов опыта

1) Зарисовать срез зерна кукурузы после окраски Судан-III.

2) Сделать выводы. Где в зерне кукурузы, в основном, локализованы жиры и жироподобные вещества?

---

---

---

### Задание для самостоятельной работы

Заполните таблицу 2, используя результаты работ по теме 1, учебных и лекционных материалов.

Таблица 2

#### Характеристика отдельных компонентов растительной клетки

Компоненты	Элементарный состав, строение молекулы (мономеры)	Место синтеза и локализация
<b>БЕЛКИ</b>		
<b>ДНК</b>		
<b>РНК</b>		
<b>ЛИПИДЫ</b>		

## Тема 2. ПОЛУЧЕНИЕ РАСТВОРА РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКА И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО СВОЙСТВ

**Цель занятия.** Ознакомиться с отдельными свойствами белков.

Белки или протеины – сложные полимеры, построенные из аминокислот, соединенных между собой пептидными связями  $-\text{CO}-\text{NH}-$ . В результате образования водородных и дисульфидных связей между различными аминокислотами молекула белка приобретает определенную пространственную конфигурацию, это явление называется **конформация белка**. Потеря белком конформации изменяет химические и физические свойства молекулы, приводит к потере физиологической активности.

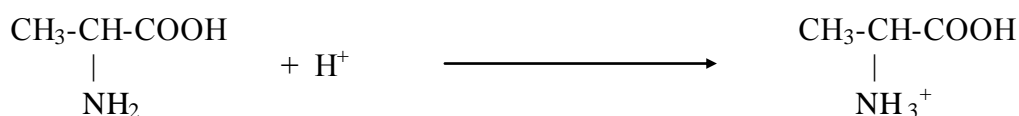
Устойчивость белковой молекулы в растворах определяется ее гидратацией. В белковой молекуле много гидрофильных групп, способных притягивать к себе воду. Так,  $-\text{CO}-\text{NH}-$  связывает одну,  $-\text{COOH}$  - две,  $-\text{NH}_2$  - три молекулы воды. Такая гидратация называется химической.

Молекула белка в растворе имеет заряд. Молекулы воды, обладая свойствами диполей, под действием электростатических сил правильно ориентируются к белковой молекуле, образуя вокруг неё водную оболочку. Чем дальше молекула воды удалена от поверхности белковой молекулы, тем беспорядочней их расположение и слабее связь.

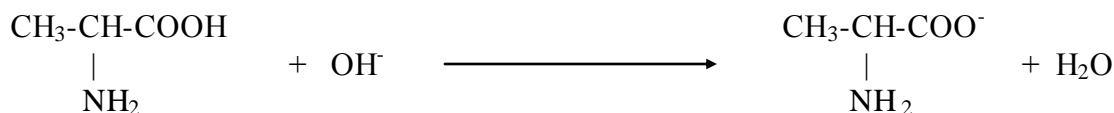
Осаждение белка из раствора можно вызвать действием водоотнимающих средств (спирт, ацетон) или добавлением достаточно большого количества соли. Выделение белка из раствора под влиянием солей называется **высаливанием**. Этот процесс применяется для получения в чистом виде белков и ферментов. При высаливании не происходит необратимого изменения конфигурации белковой молекулы и после снижения концентрации соли белок вновь переходит в раствор.

Под действием высокой температуры и концентрированных кислот белок переходит в необратимое состояние, происходит его денатурация. Она выражается в потере растворимости, снижении водопоглотительной способности, утрате физиологических функций. Аминокислоты и белки являются амфотерными электролитами и могут диссоциировать как кислоты или как основания.

При избытке ионов водорода (кислая среда) будут образовываться положительно заряженные ионы:



При избытке ионов  $\text{OH}^-$  (щелочная среда) образуются отрицательно заряженные ионы:



При некоторой определенной величине pH образование положительно и отрицательно заряженных ионов подавляется в одинаковой степени и молекула белка и аминокислоты становится электронейтральной. Это значение pH называется **изоэлектрической точкой (ИЭТ)**. Для разных белков и аминокислот ИЭТ неодинакова и зависит от соотношения свободных карбоксильных и аминокислотных групп. Важно отметить, что в растворе устойчивость белковой молекулы в ИЭТ значительно ниже, так как при этом происходит потеря заряда, снижение гидратации и коагуляция белка.