



Министерство сельского хозяйства РФ
ФГБОУ ВПО «Самарская государственная
сельскохозяйственная академия»

Кафедра «Ботаника, микробиология
и физиология растений»

В. М. Царевская, Е. Х. Нечаева

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

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

для студентов II курса факультета биотехнологии и ветеринарной
медицины, обучающихся по специальности 020803. 65 «Биоэкология»

Студент_____

Курс_____ Группа_____

Кинель
РИЦ СГСХА

УДК 581.1.(07)
ББК 41.273.Р
Ц-18

Царевская, В. М.

Ц-18 Физиология растений : методические указания и рабочая тетрадь /
В. М. Царевская, Е. Х. Нечаева. – Кинель : РИЦ СГСХА, 2012. – 30 с.

В издании даны описания лабораторных работ, охватывающих все основные разделы программы дисциплины «Физиология растений». Для каждой работы дано её краткое теоретическое объяснение, описана методика выполнения опытов, даны задания для самостоятельной работы по основным изучаемым темам, представлен перечень вопросов для подготовки к экзамену и рекомендуемая литература.

Методические указания и рабочая тетрадь предназначены для студентов факультета биотехнологии и ветеринарной медицины, обучающихся по специальности 020803.65 «Биоэкология».

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.

Цель издания – ознакомить студентов на практике с физиолого-биохимическими основами процессов жизнедеятельности растений, их взаимосвязи с условиями окружающей среды и возможностями регулирования.

Задачи методических указаний:

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

Методические указания и рабочая тетрадь для выполнения лабораторных работ по дисциплине «Физиология растений» включают структуру и методики опытов, проводимых на аудиторных занятиях по 7 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.

Занятие 1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КЛЕТКИ

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

Продолжительность – 2 ч.

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 ($-NH_2$), карбоксильных ($-COOH$), гидроксильных ($-OH$), сульфгидрильных ($-SH$), дисульфидных ($-S-S-$) 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.

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.

1.1. 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 сдвигания 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. Покрыть препарат покровным стеклом и рассмотреть под микроскопом.

Оформление результатов опыта

1) Зарисовать препараты Наименование ткани _____

Рис. 1.1. Окраска нингидрином

Рис. 1.2. Биуретовая реакция

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

1.2. 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 и метиловым зеленым.

2) Сделать выводы о локализации ДНК и РНК в клетке

1.3. 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 1, используя результаты работ по теме 1, учебных и лекционных материалов.

Таблица 1

Характеристика отдельных компонентов растительной клетки

Компоненты	Элементарный состав, строение молекулы (мономер)	Место синтеза и локализация
БЕЛКИ		