

## **2.3. Методические указания по выполнению лабораторных работ**

### **ВВЕДЕНИЕ**

В естественных условиях произрастания растения постоянно испытывают воздействие стресса. Это могут быть кратковременные воздействия (ливневый дождь, шквалистый ветер, повреждение животными и др.) или длительные (затопление, засуха, повышение или понижение температур, засоление почвы и др.). При этом в агрофитоценозе на растения воздействуют, как правило, не единичные факторы среды, а их комплекс, включающий абиотические, биотические и антропогенные стрессоры.

Указанная проблема для Беларуси является все более актуальной в связи с происходящими глобальными изменениями климата. Для республики становится характерным неустойчивый гидротермический режим вегетационного периода, отличающийся частыми весенними засухами, сопровождающимися похолоданием и заморозками, и избыточным увлажнением на фоне ливневых дождей во второй половине вегетации растений.

Поскольку любое, даже кратковременное, воздействие неблагоприятных факторов приводит к снижению физиологической активности растений и, как следствие, к потерям урожая, одной из основных задач агрономии является повышение стрессоустойчивости сельскохозяйственных культур.

В основе устойчивости растений лежит их способность приспосабливаться к изменяющимся условиям среды в результате адаптационных изменений на различных уровнях организации – от молекулярного до ценотического. При этом приспособление всегда сопровождается ответным изменением физиолого-биохимических реакций. Таким образом, чтобы научиться управлять продукционным процессом агрофитоценоза в неблагоприятных условиях среды, необходимо познание физиологических основ стрессоустойчивости растений, что и является целью изучения данной учебной дисциплины.

### **1. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ УСТОЙЧИВОСТИ**

Каждое растение в меняющихся условиях среды обладает способностью адаптации в пределах, обусловленных его генотипом.

Это свойство отличает устойчивые сорта сельскохозяйственных культур. Как правило, небольшие и кратковременные изменения факторов внешней среды не приводят к существенным нарушениям физиологических функций растений, что обусловлено их способностью сохранять относительно стабильное состояние при изменяющихся условиях внешней среды, т. е. поддерживать гомеостаз.

Отдельные внешние воздействия различной напряженности могут

суммироваться, достигая порогового значения. Это явление имеет большое приспособительное значение – оно позволяет экономно расходовать энергию, затрачивая ее лишь в ответ на раздражитель достаточной силы.

При действии раздражителей, достигших порогового значения, снижение физиологических процессов и функций может достигать критических уровней, не обеспечивающих реализацию генетической программы онтогенеза. При этом нарушаются энергетический, белковый обмены, системы регуляции и другие жизненно важные функции растительного организма. В растении возникает напряженное состояние, отклонение от нормы – стресс.

**Стресс** – это совокупность всех неспецифических изменений, возникающих в организме под влиянием любых сильных внешних воздействий (стрессоров), включающих перестройку защитных сил организма.

#### Основные группы стрессоров

Абиотические	или	Биотические	Антропогенные	
1. Недостаточная избыточная влажность.		1. Поражение возбудителями болезней.	1. Действие ксенобиотиков	–
2. Освещенность.		2. Поражение вредителями.	гербицидов, инсектицидов,	
3. Температура.		3. Конкуренция с другими растениями.	фунгицидов.	
4. Механические воздействия.		4. Влияние животных и т. д.	2. Влияние промышленных отходов.	
5. Радиоактивное излучение и др.			3. Засоление, подкисление, иссушение почвы	

Действие одного и того же фактора с одним и тем же уровнем интенсивности может вызвать или не вызвать стресс у растения, что зависит от его сопротивляемости. При медленном развитии неблагоприятных условий растение лучше приспособляется к ним (в большей степени проявляются специфические механизмы устойчивости), чем при кратковременном, но сильном воздействии (проявляются неспецифические механизмы).

**Устойчивость растений** к стрессовому воздействию зависит и от фазы онтогенеза. Наиболее устойчивы растения, находящиеся в состоянии покоя (в виде семян, луковиц и др.). Наиболее чувствительны растения в молодом возрасте, в период появления всходов, так как в условиях стресса прежде всего повреждаются те звенья метаболизма, которые связаны с активным ростом.

Резкие и длительные воздействия факторов приводят к нарушению многих функций растений, а часто и к гибели организма. Чем меньше отклонение функции от нормы и чем быстрее она возвращается к норме после снятия воздействий, тем выше устойчивость растения к данному фактору.

Устойчивость характеризуется амплитудой отклонения функции от

оптимального состояния растения, временем ее возвращения к норме, а также пределами переносимых колебаний факторов внешней среды.

Устойчивость растений к неблагоприятным условиям достигается тремя основными способами:

1. С помощью механизмов, которые позволяют избежать неблагоприятных воздействий:

- короткий период вегетации (эфемеры);
- состояние покоя – однолетние растения зимуют в виде семян, многолетние – в виде корневищ, луковиц, плодовые деревья и кустарники сбрасывают листья.

2. Посредством специальных структурных приспособлений:

- особенности анатомического строения (кутикула, корка, механические ткани и т. д.);
- специальные органы защиты (жгутые волоски, колючки);
- двигательные и физиологические реакции;
- выработка защитных веществ (фитонциды, смолы, токсины, защитные белки).

3. Благодаря физиологическим свойствам, позволяющим растениям преодолеть негативное влияние неблагоприятных факторов.

Реакция растений на неблагоприятные условия всегда комплексная, так как происходят изменения как биохимических, так и физиологических процессов.

Растения в отличие от животных обычно отвечают на действие стрессоров не активацией метаболизма, а, наоборот, снижением своей функциональной активности.

На молекулярном уровне для ликвидации возникших повреждений служат системы **репарации** (восстановления) – ферментативная репарация поврежденной ДНК.

На клеточном уровне механизмы стресса изучали Д. Н. Насонов и В. Я. Александров (учение о паранекрозе). Они установили, что на повреждающее воздействие, какой бы природы оно ни было, клетка отвечает комплексом неспецифических ответных реакций:

- уменьшением степени дисперсности цитоплазмы, т. е. увеличением размеров ее частиц;
- повышением вязкости цитоплазмы;
- увеличением общей проницаемости;
- повышением у цитоплазмы и ядра сродства к красителям. На этом показателе основано диагностирование жизнеспособности семян;
- нарушением электрического потенциала на клеточной мембране.

На организменном уровне к клеточным механизмам адаптации добавляются новые, отражающие взаимодействие органов в целом растении, усугубляется конкуренция между органами за физиологически активные вещества и трофические факторы. Эти отношения построены на силе аттрагирующего (притягивающего) действия. Подобный механизм позволяет растениям в

неблагоприятных условиях сформировать и сохранить минимум генеративных органов. Резко ускоряются процессы старения и опадения нижних листьев, а питательные вещества из них направляются в молодые органы (реутипизация); осуществляется замена поврежденных или утраченных частей (регенерация). В растениях возрастает содержание этилена и АБК, снижающих обмен веществ.

На популяционном уровне в стрессовую реакцию включаются естественный и искусственный (в селекционном процессе) отборы. При длительном и сильном воздействии стрессоров семенное потомство образуют лишь генетически более устойчивые растения и общий уровень устойчивости в популяции возрастает.

### **Работа 1. Определение жизнеспособности семян по окрашиванию цитоплазмы**

При повреждении растительной ткани увеличивается сродство цитоплазмы к красителям ввиду потери клеточными мембранами свойства полупроницаемости. На этом основаны методы определения жизнеспособности семян по окрашиванию их зародышей витальными красителями. Указанные ниже методы можно применять для оперативного анализа показателей качества семян в практике сельскохозяйственного производства.

**Цель работы:** определить жизнеспособность семян различных культур по окрашиванию цитоплазмы.

**Метод Нелюбова.** Этим методом устанавливается жизнеспособность семян гороха, фасоли, конопли, люпина и тыквенных.

**Ход работы.** Берут 10–15 семян гороха, предварительно намоченных в течение 18 часов при 20 °С, освобождают от семенной оболочки, помещают в 0,2%-ный раствор индиго-кармина на 2–3 часа при 30 °С. Затем краску сливают, промывают семена водой и устанавливают их жизнеспособность.

Семена с неокрашенными корешками и слабо окрашенными семядолями относят к жизнеспособным. Семена с полностью окрашенными корешками и семядолями признают нежизнеспособными.

**Метод Иванова.** Этим методом устанавливается жизнеспособность семян зерновых культур.

**Ход работы.** Для определения берут 10 зерновок пшеницы, предварительно вымоченных в воде в течение 10 часов при комнатной температуре, разрезают лезвием вдоль бороздки пополам и помещают па 2–3 мин в 0,2%-ный раствор кислого фуксина или 0,1%-ный раствор индиго-кармина (на 2–3 часа), налитый в стаканчик или бюкс. Краску сливают, промывают семена водой, размещают пинцетом на фильтровальной бумаге и определяют их жизнеспособность. У жизнеспособных семян зародыши не окрашены, а у мертвых или сильно поврежденных – окрашены более или менее интенсивно.

Зарисовывают жизнеспособные и нежизнеспособные семена, данные заносят в табл. 1.1. Делают выводы.

Таблица 1.1. Результаты определения жизнеспособности семян

Объект	Кол-во семян, шт.	Нежизнеспособные семена		Жизнеспособные семена		Жизнеспособность, %
		шт.	рисунок	шт.	рисунок	

**Материалы и оборудование.** Семена сельскохозяйственных культур, 0,2%-ный раствор кислого фуксина, 0,1%-ный и 0,2%-ный растворы индиго-кармина, бюксы, фильтровальная бумага, лезвия, пинцеты, препоровальные иглы.

## Работа 2. Определение устойчивости растений к экстремальным воздействиям по степени повреждения хлорофиллоносных тканей

Одним из наиболее простых и наглядных методов диагностики состояния растений является метод, основанный на образовании феофитина при действии различных повреждающих факторов. Суть метода заключается в том, что разрушающиеся мембраны изменяют свойства полупроницаемости и кислый клеточный сок проникает внутрь хлоропластов. Ион водорода вытесняет магний из молекулы хлорофилла, превращая его в феофитин – вещество бурого цвета. Чем больше повреждены ткани, тем больше образуется бурых пятен.

**Цель работы:** определить устойчивость растений к экстремальным условиям по степени повреждения тканей, содержащих хлорофилл.

**Ход работы.** В водяной бане поддерживают температуру на уровне 40 °С. В воду опускают листья испытуемых на жаростойкость растений. Первую пробу листьев извлекают из бани через 30 мин и временно переносят в кристаллизатор с холодной водой. Затем температуру в бане поднимают на 5 °С и через 10 мин берут вторую пробу листьев и также переносят в холодную воду. Так постепенно температуру воды доводят до 60 °С, беря пробы через каждые 5 °С. После этого пробы извлекают из воды и помещают в бюксы с 0,2 н раствором соляной кислоты. Через 20 мин учитывают результаты. Живые листья растений остаются зелеными, а мертвые буреют (у растений с кислым клеточным соком побурение происходит без обработки соляной кислотой). Результаты опыта записывают в табл. 1 по схеме (крестиком отмечают температуру первых признаков и полного побурения). Делают выводы.

Таблица 2.1. Повреждение листьев под действием температуры

Вариант	Температура, °С					Выводы
	40	45	50	55	60	

**Материалы и оборудование.** Листья растений, различающиеся по жаростойкости, 0,2 н раствор соляной кислоты. Водяная баня, термометр,

кристаллизаторы с холодной водой, пинцеты.

### Работа 3. Определение жизнеспособности пыльцы (по Шардакову)

У засухоустойчивых сортов пыльца более жизнеспособна. Ухудшение водообеспеченности снижает жизнеспособность пыльцы у устойчивых растений в меньшей степени, чем у неустойчивых, что определяется по наличию в пыльцевых зернах пероксидазной активности. Пыльцевые зерна, характеризующиеся сравнительно высокой активностью пероксидазы, окрашиваются в красноватый или малиновый цвет. Нежизнеспособная пыльца (с низкой пероксидазной активностью или отсутствием ее) окрашивается в желтоватый цвет или остается бесцветной.

**Цель работы:** определить жизнеспособность пыльцы при помощи окрашивания растворами бензидаина,  $\alpha$ -нафтола,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  и 0,3%-ной перекиси водорода.

**Ход работы.** На предметное стекло кисточкой наносят нативную пыльцу, предварительно подсушенную при 26 °С в течение 20 ч. К пыльце при помощи стеклянной палочки добавляют смесь четырех растворов в равных объемах: бензидаина основного,  $\alpha$ -нафтола,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  и 0,3%-ной перекиси водорода.

Пыльцу и раствор перемешивают препаровальной иглой и накрывают покровным стеклом. Если под покровным стеклом накопилось много пузырьков воздуха, препарату дают постоять некоторое время. Через 3–4 мин исследуют пыльцу при малом увеличении микроскопа. По окраске пыльцевых зерен делают вывод относительно жизнеспособности пыльцы. Для определения процента жизнеспособности пыльцы проводят ее подсчет в двух-трех полях зрения микроскопа. Результаты опыта записывают в таблицу. Делают выводы.

Таблица 3.1. Определение жизнеспособности пыльцы

Вариант	Поле зрения микроскопа	Количество пыльцевых зерен, шт.		Жизнеспособность пыльцы, %
		жизнеспособных	нежизнеспособных	

**Материалы и оборудование.** Пыльца пшеницы, предметные и покровные стекла, 3-бензидин основной (0,2 г в 100 мл 50%-ного этилового спирта),  $\alpha$ -нафтол (0,2 г в 100 мл дистиллированной воды),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0,25 г в 100 мл дистиллированной воды), перекись водорода. Микроскопы, препаровальные иглы, предметные и покровные стекла.

## 2. УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К СТРЕССОВЫМ ТЕМПЕРАТУРАМ

### 2.1. Холодостойкость растений

Под **холодостойкостью** понимают способность растений переносить положительные температуры несколько выше 0 °С.

Холодостойкость свойственна растениям умеренной зоны (ячмень, овес, лен, вика и др.). Тропические и субтропические растения повреждаются и отмирают при температурах от 0 °С до плюс 10 °С (огурец, кофе, хлопчатник и др.).

Для характеристики холодостойкости растений используют понятие температурный минимум («биологический нуль») – температура, при которой активный рост растений прекращается. Для большой группы сельскохозяйственных растений его величина составляет +4 °С.

Устойчивость растений к холоду зависит от стадии онтогенеза. Кроме того, разные органы одного растения также различаются по устойчивости к холоду (цветки более чувствительны, чем плоды и листья, а листья и корни чувствительнее стеблей).

О холодостойкости растений косвенно можно судить по такому показателю, как сумма биологических температур. Чем меньше эта величина, тем быстрее растения созревают и тем выше их устойчивость к холоду.

Растения выработали ряд механизмов, позволяющих переносить низкие положительные температуры:

- потеря тургора листьями;
- изменение их окраски (из-за разрушения хлорофилла);
- нарушение обмена нуклеиновых кислот и белков;
- нарушение функциональной активности мембран;
- нарушение поступления веществ и оттока ассимилятов;
- снижение устойчивости к болезням.

У более холодостойких растений отмеченные нарушения выражены значительно слабее и не сопровождаются гибелью растений.

Холодостойкость растений определяется их способностью сохранять нормальную структуру цитоплазмы, изменять обмен веществ в период охлаждения и последующего повышения температуры.

Изменение уровня физиологических процессов и функций при действии низких положительных температур может служить диагностическим показателем при сравнительной оценке холодостойкости растений (видов, сортов).

Для оценки холодостойкости растений используют различные методы диагностики (прямые и косвенные):

- холодный метод проращивания семян;
- сверхранние посевы в сырую и непрогретую почву;
- учет интенсивности появления всходов;

- учет темпов роста, накопления биомассы;
  - учет соотношения количества электролитов в надземной и подземной частях растения;
  - оценку изменчивости изоферментного состава и др.
- Известны следующие способы повышения холодостойкости растений:
- закаливание прорастающих семян и рассады;
  - замачивание семян в 0,25%-ном растворе микроэлементов;
  - прививка теплолюбивых растений (арбуз, дыня) на более холодоустойчивые подвои (тыква).

#### **Работа 4. Влияние температуры на рост растений**

Рост растений, как и все другие жизненные процессы, в большой степени зависит от температуры. Так, при температурах ниже нуля рост у большинства высших растений не наблюдается. При повышении температуры сначала наблюдается медленный рост, который усиливается до температур 25–30 °С. Более высокая температура у большинства видов уже замедляет процесс роста. Существуют кардинальные точки температур: минимум, оптимум и максимум. В общем, минимум для роста растений (–5–15 °С, оптимум 25–35 °С, максимум 35–50 °С. Оптимальный рост происходит только в определенных пределах, специфичных для каждого вида температурных границах.

**Цель работы:** выявить влияние температуры на рост проростков ячменя, овса, ржи, пшеницы озимой и яровой, кукурузы, огурца, тыквы. Установить, какая температура является оптимальной для роста различных видов исследуемых растений.

**Ход работы.** Семена опытных растений предварительно тщательно отбирают по размеру и массе и проращивают.

В три чашки Петри помещают кружки фильтровальной бумаги, в которые приливают по 10 мл воды. Затем отбирают одинаковые здоровые проростки и равномерно раскладывают по 10 штук в каждую чашку. Чашки закрывают крышками, подписывают и помещают в соответствующие температурные условия: I вариант 1–5–8 °С (чашки ставят в холодильник); II вариант 20–25 °С; III вариант 30–35 °С (чашки размещают в термостатах с соответствующими температурами). Во время опыта необходимо следить за температурой воздуха во всех вариантах. Через неделю производят измерения длины всех корешков и ростка у каждого проростка. Находят среднее арифметическое из десяти измеренных проростков по каждому варианту в отдельности. Результаты записывают в таблицу.

**Таблица 4.1. Результаты анализа роста проростков при различных температурных условиях**

Вид растения	Температурный режим, °С	Средняя длина, мм	
		Ростков	Корешков

**Материалы и оборудование:** пророщенные семена ячменя, овса, ржи, пшеницы, кукурузы, огурца, тыквы, термометры, чашки Петри, линейки, кружки фильтровальной бумаги, термостаты, холодильник.

## **Работа 5. Влияние температуры на прорастание семян**

Способность растений сохранять жизнеспособность при низких положительных температурах называется холодостойкостью. Холодостойкими являются растения умеренной зоны, к ним относится большинство яровых зерновых и зернобобовых культур (овес, ячмень пшеница, горох, люпин). Не являются холодостойкими теплолюбивые растения южного происхождения (бахчевые, рис, кукуруза, томат и т. д.). При низких температурах у них замедляется рост, они повреждаются или погибают.

Основной причиной гибели теплолюбивых растений от холода является повышение вязкости протоплазмы, снижение ее проницаемости, ухудшение водообеспечения, отравление токсичными продуктами жизнедеятельности. Признаками повреждения растений от холода являются завядание, пожелтение или побурение листьев.

О холодостойкости прорастающих семян можно судить по проценту проросших семян, подвергавшихся охлаждению в лабораторных условиях (в холодильнике), или по числу появившихся всходов в полевых условиях при раннем посеве в недостаточно прогретую почву или при неблагоприятно сложившихся температурных условиях после посева семян. Оценить холодоустойчивость молодых растений в полевых условиях можно путем учета их гибели при весенних понижениях температуры, нередко бывающих в период после появления всходов, или путем учета гибели растений после непосредственного охлаждения в холодильнике проростков, выращенных в чашках Петри на питательных растворах.

**Цель работы:** определение холодостойкости растений путем изучения влияния различных температур на прорастание семян.

**Ход работы.** В четыре чашки Петри помещают кружки фильтровальной бумаги, на которых указывают температуры, при которых будут проращиваться семена. В каждую чашку вливают по 10 мл дистиллированной воды и помещают по 10 хорошо выполненных, не больных и не поврежденных семян исследуемых растений. Чашки с семенами ставят на 5...7 дней в холодильники и термостаты со следующими температурными условиями: 3...5 °С; 7...10 °С; 20...25 °С; 30...35 °С. Во время опыта следят, чтобы фильтровальная бумага не подсыхала.

Начиная с третьих суток, ежедневно подсчитывают число проросших семян, которые затем удаляют из чашек. Результаты заносят в таблицу (табл. 5.1).

**Таблица 5.1. Влияние температуры на прорастание семян сельскохозяйственных растений**

Культура	Температура проращивания, °С	Исходное число семян, шт.	Дата анализа	Число проросших семян к моменту	
				всего, шт.	% к исходному количеству

Полученные результаты анализируют и делают выводы о влиянии температуры на прорастание семян и холодостойкости исследуемых растений.

**Материалы и оборудование:** семена различных растений (пшеницы, ржи, ячменя, овса, гречихи, кукурузы, гороха, люпина, льна, подсолнечника, огурца, томата), чашки Петри, кружки фильтровальной бумаги, мерные пипетки на 10 мл, дистиллированная вода, термометры, термостаты, холодильники.

### **Работа 6. Влияние температуры на проницаемость клеточных мембран**

Бетацанин – пигмент столовой свеклы, хорошо растворимый в воде и находящийся в клеточном соке. Чтобы попасть во внешнюю среду, он должен пройти через тонопласт, основной цитоплазматический матрикс и плазмалемму. Диффузия бетацанина из вакуоли в среду может проходить достаточно быстро при действии различных факторов или агентов, вызывающих изменение проницаемости мембран и, прежде всего, высокой температуры. Измеряя оптическую плотность среды через определенный промежуток времени воздействия высокой температуры на растительную ткань, можно оценить степень влияния этого фактора на проницаемость мембран. В то же время раствор сахарозы, находящийся в клетке, обладает защитными свойствами, повышая термоустойчивость клеточных мембран.

**Цель работы:** изучить влияние температуры на проницаемость клеточных мембран.

**Ход работы.** Сверлом или скальпелем из корнеплода столовой свеклы вырезают шесть кусочков ткани равного размера (примерно 2×0,5×0,5 см). Промывают их водопроводной водой для удаления остатков поврежденных клеток и помещают в шесть пробирок.

В первые три пробирки наливают по 10 мл дистиллированной воды, в следующие – по 10 мл 0,5 М сахарозы. Две пробирки (одна с водой, другая с сахарозой) оставляют при комнатной температуре, две другие ставят в водяную баню с температурой 35 °С, две оставшиеся – в водяную баню с температурой 45 °С. Отмечают время начала эксперимента.

В течение часа каждые 15 минут пробирки встряхивают и из них берут пробы раствора для определения оптической плотности на фотозлектроколориметре с зеленым светофильтром при длине волны 540 нм.

После измерения раствор возвращают в соответствующую пробирку. Запись результатов проводят в таблицу (табл. 6.1).

По данным этой таблицы строят график зависимости изменения проницаемости клеточных мембран от температуры и концентрации сахарозы, откладывая оптическую плотность по оси ординат, время эксперимента – по оси абсцисс. Подбирают масштаб графика, позволяющий полностью отобразить полученную закономерность. Делают выводы.

Таблица 6.1. **Влияние температуры на проницаемость клеточных мембран**

Вариант опыта	Температура, °С	Оптическая плотность раствора после экспозиции			
		15 мин	30 мин	45 мин	60 мин
Контроль (вода)	Комнатная				
	35 °С				
	45 °С				
Сахароза 0,5 М	Комнатная				
	35 °С				
	45 °С				

**Материалы и оборудование:** Столовая свекла, 0,5 М раствор сахарозы, дистиллированная вода, водяные бани, термометры, свекла, скальпели, пипетки, пробирки, фотоэлектроколориметр.

### **Работа 7. Оценка холодостойкости кукурузы на первых этапах роста и развития**

**Вводные пояснения.** Во многих районах в период вегетации кукуруза подвергается длительному воздействию низких температур и кратковременных заморозков, оказывающих сильное влияние на ход физиологических процессов, формирование урожая и качество семян. Изучение отзывчивости организма на температурное воздействие имеет большое значение, особенно в периоды набухания, прорастания семян и роста проростков. Различия в способности сортов кукурузы адаптироваться в условиях пониженной температуры выражаются в скорости прорастания семян и темпах роста проростков.

**Цель работы:** определить процент всхожести семян кукурузы при низких положительных температурах.

**Ход работы.** Всхожесть семян определяют в растильнях на фильтровальной бумаге, концы которой опускают в воду. 50–100 семян (по каждому варианту) проращивают в камерах холодильной установки при +14, +10, +6 °С. На шестой день проращивания определяют процент всхожести. Результаты опыта записывают по следующей схеме.

Таблица 7.1. Влияние температуры на проростание семян кукурузы

Вариант (сорт)	Количество проросших семян при температуре, шт./%			Выводы
	+14 °С	+10 °С	+6 °С	

**Материалы и оборудование.** Семена двух-трех сортов, различающихся по холодоустойчивости. Холодильные установки, фильтровальная бумага, растильни.

## 2.2. Морозоустойчивость растений

**Морозоустойчивость** – способность растений переносить низкие отрицательные температуры.

Растения переносят условия зимы в различные периоды онтогенеза. У однолетних культур зимуют семена (яровые), раскустившиеся растения (озимые); у двулетних и многолетних – клубни, корнеплоды, луковицы, корневища, взрослые растения.

Большой вклад в изучение физиологических основ морозоустойчивости внесли Н. А. Максимов, Г. А. Самыгин, И. И. Туманов и другие исследователи. Лед, образующийся в межклетниках, обезвоживает клетки и повреждает мембраны. Механическое сжатие льдом повреждает клеточные структуры. Последствия воздействия низких отрицательных температур зависят от оводненности тканей растений. Насыщенные водой ткани легко повреждаются, сухие семена могут выносить температуру до  $-193\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Низкое содержание воды предохраняет от образования льда в растениях при промораживании. Разные растения, их клетки имеют свой критический предел обезвоживания и сжатия, превышение которого, а не только снижение температуры, приводит к их гибели.

У морозоустойчивых растений имеются защитные механизмы, в основе которых лежат определенные биохимические изменения. При понижении температуры у таких растений наблюдается:

- усиление процессов синтеза веществ, защищающих ткани (криопротекторов) – прежде всего сахаров;
- увеличение в составе мембран количества ненасыщенных жирных кислот;
- снижение оводненности клеток.

Значительное влияние на повышение морозоустойчивости растений оказывают сахара. Они выполняют следующие функции:

- защищают белковые соединения от денатурации;
- повышают осмотическое давление и снижают температуру замерзания;
- увеличивают водоудерживающую способность протоплазмы клеток.

## **Закаливание растений, его фазы.**

Способность растений переносить отрицательные температуры определяется наследственной основой данного вида (сорта) растений. Однако морозоустойчивость – непостоянное свойство растений, она зависит от условий, предшествующих наступлению морозов, от физиологического состояния растений. Растения, выращенные при относительно низких положительных температурах, более устойчивы, чем выращенные при относительно высоких осенних температурах. Свойство морозоустойчивости формируется в процессе онтогенеза растений под влиянием определенных условий среды в соответствии с генотипом растений; оно связано с резким снижением темпов роста, переходом растений в состояние покоя.

Повышение морозоустойчивости тесно связано с процессами закаливания, т. е. с постепенной подготовкой растений к воздействию низких температур.

Способностью к закаливанию обладают не все растения, а только древесные и зимующие травянистые растения северных широт, переносящие значительное понижение температуры в зимний период (минус 20 °С и ниже), теплолюбивые растения (хлопчатник, рис, бахчевые культуры) при длительном пребывании при температурах чуть выше 0 °С не только не становятся устойчивыми, но еще сильнее повреждаются или даже погибают, так как в них накапливаются ядовитые вещества, усиливающие губительное действие на растения отрицательных температур.

Способность к закаливанию у древесных и зимующих травянистых растений в период летней вегетации отсутствует и проявляется только при осенних пониженных температурах (если растение к этому времени прошло полный цикл своего развития).

Закаливание травянистых и древесных растений ухудшает избыточное азотное питание, удлиняющее период роста до поздней осени.

К закаливанию способен лишь весь организм, при обязательном наличии корневой системы. По-видимому, в корнях вырабатываются вещества, повышающие устойчивость растений к морозу.

И. И. Туманов выделяет две фазы закаливания.

**Первая фаза** закаливания протекает на свету, при низких положительных температурах (днем около +10 °С, в ночное время немного выше 0 °С) и умеренной влажности почвы.

**Вторая фаза** закаливания не требует света и протекает при постепенном нарастании отрицательных температур.

Озимые злаки проходят первую фазу закаливания за 6–9 дней, древесные – за 30 дней. Вторая фаза длится около двух недель.

Процесс закаливания обратим, при этом морозоустойчивость растений снижается.

Основой решения задачи повышения морозоустойчивости является выведение морозоустойчивых сортов растений, хорошо адаптированных к климатическим условиям данного региона.

Агротехника конкретного вида растений (срок и способ посева и др.) должна в процессе закаливания максимально способствовать реализации возможной генетически детерминированной морозоустойчивости сорта.

Морозоустойчивость растений озимой пшеницы попожительно коррелирует с содержанием сахаров в узлах кущения. В хороших посевах озимой пшеницы в декабре содержание растворимых углеводов составляет в листьях 18–24 % (на сухое вещество), а в узлах кущения – 39–42 %. Растения, закладывающие узлы кущения глубоко (3–4 см), как правило, более морозоустойчивы, чем те, у которых узел кущения находится близко к поверхности (1–2 см). Глубина залегания узла кущения и мощность его развития зависят от качества семян, способа посева, обработки почвы.

Устойчивость растений к морозу возрастает на постоянно известкуемых почвах при внесении под посев озимых калийно-фосфорных удобрений, микроэлементов, тогда как избыточные азотные удобрения, способствуя процессам роста, делает растения озимых более чувствительными к морозам.

### **Работа 8. Защитное действие сахара на протоплазму при замораживании**

Реакция растений на низкие отрицательные температуры называется морозоустойчивостью растений. При замораживании растительных тканей в межклетниках образуется лед, который оказывает водоотнимающее и механическое действие на коллоиды протоплазмы. В результате наблюдается коагуляция протоплазмы у растений, не обладающих морозоустойчивостью. Об отмирании протоплазмы можно судить по вытеканию из клеток ткани клеточного сока, так как в этом случае она теряет свойство полупроницаемости.

Морозоустойчивые растения не погибают при замерзании. Это объясняется накоплением в клетке осмотически активных веществ (сахаров), предохраняющих коллоиды протоплазмы от коагуляции. Защитную роль сахаров можно наблюдать и в лабораторных опытах с растениями и тканями, не обладающими морозоустойчивостью. Для этой цели кусочки тканей замораживают в растворах сахарозы. В этом случае концентрированные растворы предохраняют от гибели большинство клеток.

**Цель работы:** изучение защитного действия сахара на протоплазму растительных клеток при их замораживании. Определение влияния концентрации сахара на состояние тканей корнеплодов свеклы при замораживании.

**Ход работы.** Из очищенного корнеплода столовой свеклы делают тонкие срезы, пригодные для микроскопии. Срезы сразу же помещают в чашку с водой для удаления сока из перерезанных клеток, а затем переносят в три пронумерованные пробирки. Масса ткани во всех пробирках должна быть одинаковой.

В первую пробирку наливают воду, во вторую 1,0 М раствор сахарозы, в третью – 0,5 М раствор сахарозы. Объем жидкости в пробирках должен быть одинаковым (5 мл).

В стакан с охлаждающей смесью (три части снега или льда и одна часть соли) помещают приготовленные пробирки со срезами и термометр на 30–35 мин. Во время нахождения пробирок в охлаждающей смеси наблюдают за показаниями термометра и записывают наиболее низкую температуру. По истечении времени пробирки переносят в стакан с водой для оттаивания. После оттаивания записывают окраску наружного раствора в каждой пробирке. Затем наиболее тонкие срезы помещают на предметное стекло и просматривают под микроскопом при малом увеличении в капле 1,0 М раствора NaCl. Определяют количество плазмолизированных клеток, имеющих вид красных пятнышек на сером фоне ткани. О жизнедеятельности клеток и тканей судят по наличию в них плазмолиза. Результаты наблюдений заносят в табл. 8.1.

**Таблица 8.1. Влияние концентрации сахара на морозоустойчивость корнеплода свеклы**

Вариант	Температура замораживающей смеси, °С	Окраска наружного раствора (бледно розовая, розовая, красная)	Кол-во плазмолизованных клеток (много, мало, отсутствуют)	Состояние ткани после оттаивания (живая, мертвая, поврежденная)

На основании наблюдений сделайте вывод о защитном действии сахара, как механизма морозоустойчивости.

**Материалы и оборудование.** Корнеплоды столовой свеклы; 1 М и 0,5 М растворы сахарозы; 1 М раствор NaCl, поваренная соль, снег или лед; пробирки, фарфоровые стаканы, термометры, бритвы, предметные и покровные стекла, препаровальные иглы, микроскопы, лопатки для перемешивания охлаждающей смеси, восковые мелки, чашки на 50 мл.

### **Работа 9. Защитное действие сахарозы на белки протоплазмы при отрицательных температурах**

При действии на растение экстремальных температур белки коагулируют. Выпадение хлопьевидного осадка белка из вытяжки растительной ткани – показатель ее повреждения. Сахароза стабилизирует нативную структуру белка, тем самым защищая ее от губительного действия отрицательных температур.

**Цель работы:** Изучить влияние концентрации сахарозы на белки протоплазмы при замораживании.

**Ход работы.** Очищенный клубень картофеля натирают на терке, переносят

на двойной слой марли, отжимают через нее сок в коническую колбу и дают отстояться крахмалу.

**Таблица 9.1. Влияние концентрации сахарозы на белки протоплазмы при замораживании**

Вариант	Температура замораживающей смеси, °С	Интенсивность коагуляции белка (сильная, слабая, отсутствует)	Рисунки
2,5 мл (надосадочной жидкости) + 2,5 мл (дистиллированной H <sub>2</sub> O)			
2,5 мл (надосадочной жидкости) + 2,5 мл (0,5 М раствора сахарозы)			
2,5 мл (надосадочной жидкости) + 2,5 мл (1 М раствора сахарозы)			

Надосадочную жидкость наливают в три пробирки по 2,5 мл. В первую добавляют 2,5 мл дистиллированной воды, во вторую – 2,5 мл 0,5 М раствора сахарозы, в третью – 2,5 мл 1,0 М раствора сахарозы. Перемешивают содержимое пробирок и ставят в охлаждающую смесь на 20 мин (работа 8). Затем пробирки переносят в стакан с водопроводной водой для оттаивания. Не встряхивая содержимое пробирок наблюдают за образованием хлопьев коагулировавшего белка. Пробирки зарисовывают, делают выводы.

**Материалы и оборудование.** Клубни картофеля, 0,5 и 1,0 М растворы сахарозы, дистиллированная вода, снег, поваренная соль, терки, марля, конические колбы, пипетки, пробирки, чашки для охлаждающей смеси.

### **Работа 10. Определение морозоустойчивости растений на проростках**

**Цель работы:** изучить влияние низких отрицательных температур на проростки и провести оценку морозоустойчивости растений.

**Ход работы.** Каждый образец опытных семян насыпают отдельно в кристаллизатор, заливают водой на 5 см выше поверхности семян и ставят в термостат при 15 °С для набухания на сутки. Затем воду сливают и семена оставляют при той же температуре для прорастания, на 2 суток. Перед закаливанием из каждого образца отбирают по 50–100 семян приблизительно одинакового размера (5–8 мм), заворачивают с этикеткой в хорошо отжатый от воды кусочек марли и помещают на вкладыш в эксикатор для закаливания. Эксикатор ставят в холодильную камеру на 7 суток при температуре 0, +2 °С. За это время проростки проходят первую фазу закаливания. Затем обеспечивают им условия для прохождения второй фазы (температура –4, –5 °С в течение трех суток). Промораживание проводят в течение 1–3 суток при

температуре  $-10$ ,  $-15$  °С. Промороженные растения оттаивают в течение суток при температуре  $2$  °С. Затем на дно эксикатора наливают воду для создания влажной атмосферы и выдерживают еще двое суток при  $20-25$  °С. После этого проростки переносят в растильни. Через семь дней отращивания в растильне при  $20-25$  °С проводят учет выживших растений и делают заключение об устойчивости сорта. Результаты опыта записывают по форме табл. 10.1.

Таблица 10.1. **Определение морозоустойчивости растений**

Вариант	Количество выживших проростков, % от общего числа	Выводы

**Материалы и оборудование.** Семена растений двух-трех сортов, различающихся по морозоустойчивости. Кристаллизаторы, термостат, эксикаторы, холодильные камеры, миллиметровая бумага, марля, лотки для отращивания растений.

### **Работа 11. Определение морозоустойчивости по степени проницаемости протоплазмы для электролитов**

При действии низких температур происходят различные изменения физико-химических свойств клеточных мембран, в частности повышается их проницаемость для электролитов.

**Цель работы:** изучить влияние сахарозы на белки протоплазмы при замораживании.

**Ход работы.** Растения выращивают до фазы двух-трех листьев. Первый этап закаливания проводят в течение 7 дней при  $2$  °С, второй – в течение 3 дней при  $-4$  °С. Промораживанию подвергают отрезки стебля длиной  $1-1,5$  см при  $-7$ ,  $-9$ ,  $-15$  °С в течение 6 ч.

После промораживания берут три навески растений, по  $0,5$  г (по каждому варианту), помещают в ячейки для определения электропроводности и наливают одновременно  $50$  мл дистиллированной воды. Продолжительность экстракции  $4$  ч при комнатной температуре.

В качестве контроля используют значение электропроводности раствора, полученного при экзоосмосе (выходе электролитов) из убитых при кипячении тканей стебля. Для этого одну навеску растений ( $0,5$  г) каждого варианта кипятят в пробирках с дистиллированной водой в течение  $10$  мин. Затем вынимают из кипящей воды и помещают одновременно с исследуемыми образцами для экзоосмоса в ячейки с  $50$  мл дистиллированной воды. Выход электролитов определяют по сопротивлению растворов при помощи реохордного моста Р-38. Для анализа полученных результатов используют относительную электропроводность – процент от уровня экзоосмоса

электролитов из тканей стебля, убитых при кипячении. Результаты опыта записывают по следующей схеме.

Таблица 11.1. **Определение морозостойчивости растений по степени проницаемости протоплазмы для электролитов**

Вариант	Электропроводность при температуре			Выводы
	-7 °С	-9 °С	-15 °С	

**Материалы и оборудование.** Растения двух-трех сортов, различающихся по морозостойчивости. Холодильные камеры, весы, пробирки, реохордный мост Р-38, эксикаторы для закаливания растений.

### 2.3. Зимостойкость растений

**Зимостойкость** – устойчивость растений к комплексу неблагоприятных факторов перезимовки.

Непосредственное действие мороза – не единственная опасность, угрожающая растениям в течение зимы. Помимо прямого действия мороза растения повреждаются и гибнут от ряда других неблагоприятных факторов в зимнее время и ранней весной. Особенно многочисленными неблагоприятными воздействиями испытывают травянистые многолетние и однолетние растения. В неблагоприятные годы гибель посевов озимых зерновых достигает 60 %.

В понятие зимостойкости входит устойчивость к выпреванию, вымоканию, ледяной корке, выпиранию, повреждению зимней засухой.

Гибель растений от **выпревания** наблюдается преимущественно в теплые зимы с большим снежным покровом, особенно если снег выпадает на мокрую и талую землю. Причина гибели растений от выпревания – их истощение, снежная плесень. Устойчивость сортов озимых к выпреванию в районах с очень глубоким снежным покровом обуславливается прежде всего накоплением достаточного запаса растворимых углеводов, а также возможно меньшей интенсивностью дыхательного процесса при пониженных температурах.

**Вымокание** проявляется преимущественно весной в пониженных местах в период таяния снега, реже во время длительных оттепелей, когда на поверхности почвы накапливается талая вода, которая не впитывается в замерзшую почву и может затопить растения. В этом случае причиной гибели растений является резкий недостаток кислорода (анаэробные условия – гипоксия), вызывающий нарушение многих метаболических процессов.

**Ледяная корка** образуется на полях в районах, где частые оттепели сменяются сильными морозами. Причина гибели состоит в том, что они подвергаются сильному механическому давлению, утрачивают морозостойчивость из-за прекращения аэрации, а также вследствие усиления

влияния низких температур. Растения, как и в случае вымокания, переходят на анаэробное дыхание, при котором образуется спирт и другие токсические вещества.

**Выпирание растений** происходит, если осенью морозы наступают при отсутствии снежного покрова или если в поверхностном слое почвы мало воды (при осенней засухе), а также при оттепелях. Образующаяся на глубине прослойка льда приводит к разрыву корневой системы растений. Весной после оттаивания почвы растения остаются лежать на поверхности и погибают от иссушения.

Повреждения плодовых деревьев и кустарников от **зимней засухи** наблюдаются в условиях бесснежной или малоснежной зимы и постоянных ветров, особенно в конце зимы при значительном нагреве солнцем

Основными способами повышения зимостойкости растений являются подбор и селекция видов и сортов сельскохозяйственных культур, наиболее приспособленных к комплексу неблагоприятных условий перезимовки конкретного региона.

В селекционном процессе успешно используют оценку зимостойкости озимых зерновых культур по комплексу физиологических показателей.

## **Работа 12. Определение жизнеспособности озимых растений после перезимовки путей окрашивания тканей**

Под зимостойкостью понимают способность растений благополучно перезимовывать. Во время зимы растения могут погибать не только от воздействия отрицательных температур, но и от выпирания, вымокания, выпревания, ледяной корки и зимней засухи.

Удобным способом диагностики жизнеспособности озимых растений после перезимовки является их способность к окрашиванию в растворах кислого фуксина и тетразола. Состояние побега оценивают по окраске продольного среза конуса нарастания, окружающих его листочков и нижней стеблевой части. Живые клетки этих тканей после окрашивания срезов кислым фуксином, остаются бесцветными, поврежденные окрашиваются в розовый цвет, а погибшие становятся красными. По-иному обстоит дело с другим красителем – тетразолом (трифенилтетразолхлоридом). В живых клетках под действием ферментов тетразол превращается в формазин – кристаллы малинового или темно-вишневого цвета. Особенно ярко окрашиваются активные меристематические ткани. Мертвые нежизнеспособные клетки окраски не приобретают.

**Цель работы:** определить состояние посевов озимых после перезимовки по жизнеспособности тканей конуса нарастания, сопоставить устойчивость к перезимовке: пшеницы, ржи, тритикале.

**Ход работы.** Для определения жизнеспособности озимых после перезимовки отбирают в поле не менее 10 растений каждой культуры. Делают продольные

срезы по центру наиболее развитого побега. Одну половину среза стеблевого конуса нарастания погружают на 15 мин в 0,3%-ный раствор фуксина, затем промывают дистиллированной водой до тех пор, пока вода не станет бесцветной. Срезы покрывают покровными стеклами и рассматривают под микроскопом (увеличение 1.0×8 или 10×40). Живые клетки остаются бледно-зелеными или бесцветными, поврежденные окрашиваются в слабо-розовый цвет, мертвые становятся ярко-красными.

Вторую половину среза каждого растения заливают 0,5%-ным раствором тетразола и помещают на 1 час в термостат при 40 °С. Затем рассматривают под микроскопом. У живых растений конус нарастания окрашивается в оранжевый или красный цвет, у погибших – не окрашивается. Подсчитывают количество живых, поврежденных и мертвых растений. Результаты опытов записывают в табл. 12.1.

Сделайте выводы о состоянии посевов и сравните устойчивость к перезимовке изучаемых культур.

**Таблица 12.1. Оценка состояния посевов озимых растений после перезимовки по окраске конуса нарастания**

Культура	Число проанализированных растений	Состояние конуса нарастания главного побега при окраске фуксином или тетразолом			Кол-во живых растений, %	Оценка состояния посевов
		живые, шт.	поврежденные, шт.	мертвые, шт.		

**Материалы и оборудование.** Растения пшеницы, ржи, тритикале; 0,3%-ный раствор фуксина, 0,5%-ный раствор тетразола; скальпели, препаровальные иглы, предметные и покровные стекла, пипетки, термостат.

### **Работа 13. Определение состояния озимых зерновых культур по отрастанию в воде**

В период зимовки озимых культур, особенно в годы с неблагоприятными погодными условиями, необходимо систематически наблюдать за состоянием посевов.

**Цель работы:** освоить метод определения жизнеспособности озимых зерновых культур по отрастанию в воде.

**Ход работы.** В зимний период в двух-четырех типичных местах посева озимых зерновых культур выбирают растения с почвой из двух смежных рядов длиной по 0,5 м каждый, подрубают их на глубину 8–10 см и отделяют их от почвы насколько это возможно. Растения переносят в

помещение на оттаивание при температуре не выше 5–10 °С. После оттаивания растения отделяют от почвы и промывают водопроводной водой. Затем у них обрезают корни на 4 см и стебли с листьями на 5–6 см от узлов кущения. Подготовленные растения помещают в растильни, наполовину заполненные водой (корни и нижняя часть узлов кущения должны находиться в воде). Воду в растильнях меняют каждые два дня. Растения отращивают в освещенном помещении с температурой воздуха 15–20 °С. На седьмой день учитывают живые растения. Погибшие растения не образуют новых листьев и корней из узла кущения. В течение зимне-весеннего периода проводят несколько определений. Рассчитывают жизнеспособность озимых культур по формуле (1). Данные записывают по форме в таблицу:

$$Жр = \frac{a}{b} \cdot 100, \quad (1)$$

где Жр – жизнеспособность растений озимых культур, %;

*a* – количество живых растений, шт.;

*b* – общее количество проанализированных растений, шт.

Таблица 13.1. **Определение жизнеспособности озимых культур**

Вариант опыта	Дата определения	Кол-во проанализированных растений, шт.	Кол-во живых растений, шт.	Жизнеспособность, %

**Материалы и оборудование.** Растения озимых культур, ломы или топоры, скальпели, ножницы, растильни.

#### **Работа 14. Определение степени закаливания озимых зерновых культур**

Важная биологическая особенность озимых зерновых культур – способность к закаливанию, что дает возможность растениям переносить неблагоприятные условия зимнего периода. О степени закаленности растений позволяет судить метод, основанный на определении жизнеспособности эпидермиса нижней стороны листа после закаливания. Во время закаливания озимых клетки эпидермиса нижней стороны листа приобретают повышенную прочность к механическим повреждениям, поэтому при срывании эпидермиса листа клетки его не повреждаются и могут плазмолизировать. Таким образом, количество прочных клеток служит определенным критерием степени закаливания озимых зерновых.

**Цель работы:** определить степень закаливания растений озимых культур методом плазмолиза.

**Ход работы.** У предварительно закаленных и незакаленных растений с нижней стороны средней части первого листа снимают эпидермис. Изолированный эпидермис помещают для окрашивания протоплазмы клеток на несколько минут в водный 0,05%-ный раствор нейтральрота. Окрашенные срезы переносят на предметное стекло в каплю 0,75 М раствора сахарозы и накрывают покровным стеклом. Через несколько минут неповрежденные клетки плазмолизируют. Количество плазмолизованных клеток и общее количество клеток в поле зрения микроскопа подсчитывают. Результаты записывают по форме таблицу. Делают выводы о степени закаливания.

Таблица 14.1. **Определение степени закаливания растений**

Вариант опыта	Число плазмолизованных клеток, шт.	Общее число клеток в поле зрения микроскопа, шт.	Содержание плазмолизованных клеток, %	Степень закаливания

**Материалы и оборудование.** Растения озимых культур, 0,05%-ный раствор нейтральрота, 0,75 М раствор сахарозы, предметные и покровные стекла, микроскопы.

### **Работа 15. Определение жизнеспособности озимых в зимний период методом монолитов**

В период зимовки озимых культур, особенно в годы с неблагоприятными погодными условиями, необходимо систематически наблюдать за состоянием посевов. Одним из наиболее надежных методов является отращивание растений в монолитах.

**Цель работы:** определить состояние посевов озимых методом монолитов.

**Ход работы.** Монолиты для отращивания вырубает топором или ломом. Для отбора монолитов используют ящики размером 30×30×15 см. Работу проводят при температуре воздуха не ниже минус 12–14 °С. Транспортируя монолиты в помещение, их утепляют соломой или мешковиной.

Размораживают монолиты в помещении с температурой не выше 5–10 °С до полного оттаивания.

Для создания благоприятных условий растения накрывают полиэтиленовой пленкой. У оттаявших растений обрезают надземную массу на высоте 5–6 см от поверхности почвы. Для отращивания растений монолиты помещают в хорошо освещенное помещение с температурой воздуха 15–20 °С, поливают водой комнатной температуры, не допуская переувлажнения почвы. Общий вид монолитов, отобранных в стандартные ящики, приведен на рис. 15.1.

Проводят несколько учетов жизнеспособности растений в зимний период с промежутками во времени 15–20 дней. К живым относят растения, образовавшие листья и новые узловые корни.

При общей оценке жизнеспособности учитывают такие показатели, как процент живых растений и интенсивность отрастания листьев. Результаты опыта записывают по форме таблицы

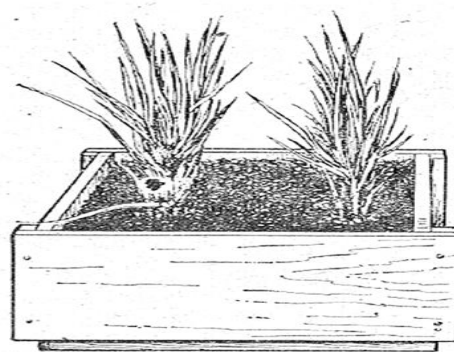


Рис. 15.1. Общий вид монолита, отобранный в стандартный ящик

Таблица 15.1. Определение жизнеспособности растений

Вариант опыта	Учет/ дата	Количество выживших растений при отборе монолитов, шт/%			Выводы о жизнеспособности растений
	I				
	II				
	III				

**Материалы и оборудование.** Ящики для монолитов, ломы или топоры, полиэтиленовая пленка, ножницы.

## 2.4. Жароустойчивость растений

Высокотемпературный стресс представляет собой один из самых значимых абиотических факторов, действующих на растения. На более, чем 23 % территории суши среднегодовая температура воздуха превышает 40 °С в течение нескольких часов, при этом жара, как правило, сочетается с засухой, что усиливает негативное последствие стрессов. Посчитано, что более четверти посевов находятся в зоне одновременного действия жары и засухи с урожайностью в 3–7 раз ниже ожидаемой.

Группы растений в зависимости от их температурного оптимума		
<b>Жаростойкие</b> (термофильные цианобактерии и бактерии горячих источников – переносят 75–100 °С)	<b>Жаровыносливые</b> (растения пустынь и сухих мест обитания – суккуленты, кактусы выдерживают перегрев до 50–65 °С)	<b>Нежаростойкие</b> (мезофиты и гидрофиты – переносят кратковременное действие температуры 40–45 °С)

Сельскохозяйственные культуры относятся к последней группе по жароустойчивости, причем устойчивее, как правило, наиболее теплолюбивые растения южных широт (хлопчатник, рис, сорго и др.). При этом чем суше место обитания и чем выше температура воздуха, тем больше жароустойчивость культуры.

Устойчивость растений к высоким температурам (перегреву) называют жароустойчивостью, или термотолерантностью. Жароустойчивость, особенно в южных районах, означает устойчивость к двум факторам: к высокой температуре и прямой солнечной радиации.

Высокая температура вызывает изменение структуры белков, нарушает скорость течения биохимических реакций. Это приводит к изменению активности ферментов, увеличению проницаемости мембран, нарушению гомеостаза. Высокотемпературное воздействие сказывается на текучести мембран, в результате чего происходит увеличение проницаемости мембран и выделение из клетки водорастворимых веществ. Вследствие этого наблюдается дезорганизация многих функций клеток.

В результате нарушения функций организма при действии высоких температур растение испытывает тепловой шок.



Рис. 15.2. Действие высокой температуры на физиологические процессы

## Работа 16. Определение жаростойкости растений

При повышении температуры окружающей среды выше оптимальной для данного вида растений в них нарушается обмен веществ, а при более высокой температуре – резко повышается проницаемость протоплазмы за счет разрушения белково-липидного комплекса мембран.

Метод определения жаростойкости основан на свойстве способности протоплазмы противостоять действию высокой температуры и способности соляной кислоты проникать в поврежденные высокой температурой клетки с

образованием феофитина, который вызывает побурение хлорофиллсодержащих органов растений.

**Цель работы:** определить жаростойкость растений с помощью сканирующего устройства по состоянию протопласта.

**Ход работы.** Берут листья различных по степени жаростойкости растений, определяют их площадь и помещают в водяную баню при температуре 40 °С. Через 30 мин температуру в бане поднимают на 10 °С. Постепенно доводят температуру в водяной бане до 60 °С (каждые 10 мин повышая температуру на 10 °С). Листья вынимают из горячей воды и помещают в чашку Петри с водой комнатной температуры для охлаждения на 20 мин. Заменяют воду в чашках Петри на 0,2 н раствор соляной кислоты. Через 20 мин наблюдают за изменением окраски листьев. Различную степень повреждения определяют по площади появившихся на листьях бурых пятен с помощью сканера. Результаты записывают по форме табл. 16.1.

Таблица 16.1. Определение жаростойкости растений

Вариант опыта (растение)	Площадь листа, см <sup>2</sup>	Поврежденные участки		Степень повреждени я	Жаростойкос ть
		см <sup>2</sup>	% от площади листа		

Таблица 16.2. Шкала жаростойкости растений (температура 60 °С)

Доля поврежденных участков,%	Степень повреждения	Жаростойкость
1–5	Очень слабая	Очень высокая
6–15	Слабая	Высокая
16–30	Средняя	Повышенная
31–50	Сильная	Низкая
Более 50	Очень сильная	Очень низкая

**Материалы и оборудование.** Листья различных по жаростойкости растений, 0,2 н раствор HCl, водяная баня, термометры, чашки Петри, часы.

### Работа 17. Определение жаростойкости различных растений по вязкости протоплазмы клеток

При воздействии высоких температур клетки растений, обладающие высокой вязкостью и эластичностью протоплазмы, в большей степени способны противостоять повреждающим воздействиям. Степень вязкости протоплазмы можно определить по времени, в течение которого вогнутый плазмолиз переходит в выпуклый.

**Цель работы:** определить жаростойкость культур по вязкости цитоплазмы.

**Ход работы.** Готовят поперечный срез листа (алоэ, эпидермис лука или

листьев другого мезофита), помещают на часовое стекло и в течение 5–10 мин окрашивают нейтральным красным (1:5000). После промывки срезы подсушивают фильтровальной бумагой и переносят на предметное стекло в каплю 1М сахарозы. Прикрывают срезы покровным стеклом, края которого смазывают вазелином, чтобы избежать испарения воды. Наблюдая за срезами под микроскопом, отмечают время вогнутого и выпуклого плазмолиза. По времени появления выпуклого плазмолиза судят о степени, вязкости протоплазмы. Результаты опыта записывают по схеме.

**Материалы и оборудование.** Объекты исследований, нейтральный красный (1:5000), фильтровальная бумага, 1М раствор сахарозы, вазелин. Лезвия бритвы, предметные и покровные стекла, микроскопы, препаровальные иглы, часовые стекла или баночки с крышками НВЛ 50–10,0 мл.

Таблица 17.1. **Определение вязкости протоплазмы клеток растений различных по жаростойкости сортов**

Растение	Время появления выпуклого плазмолиза	Относительная вязкость протоплазмы
1		
2		
3		

### **Работа 18. Определение температурного порога коагуляции цитоплазмы**

Для характеристики жаростойкости растений важно определить температурный порог коагуляции белков цитоплазмы. Гибель клеток устанавливают по потере ими способности плазмолизироваться.

**Цель работы.** Научиться определять температурный порог коагуляции протопласта методом плазмолиза.

**Ход работы.** Готовят 12 срезов эпидермиса листа исследуемого растения (листья лука или традесканции) и помещают по два среза в пробирки с небольшим количеством воды. Нагревают в большой колбе воду. Смешивают горячую воду с холодной, в шести химических стаканах готовят водяные бани с температурой 48, 50, 52, 56 и 58 °С (на стаканах делают надписи восковым карандашом). Пробирки со срезами одновременно погружают в бани. В дальнейшем поддерживают установленную температуру осторожным приливанием в стаканы горячей воды. Через 10 мин срезы извлекают кисточкой из пробирок и переносят на предметные стекла, снабженные соответствующими надписями. Если клетки не содержат пигментов, их окрашивают нейтральным красным в течение 5–10 мин, затем отсасывают с предметного стекла раствор краски фильтровальной бумагой, наносят на срезы по одной капле 1М раствора сахарозы и накрывают покровными стеклами. Через 15–20 мин срезы рассматривают в микроскоп.

Делают выводы относительно температурного порога коагуляции изучаемых

растений. Результаты записывают по схеме, обозначая знаками «+» и «-» наличие и отсутствие плазмолиза.

Таблица 18.1 **Определение температурного порога коагуляции цитоплазмы**

Объект	Наличие явление плазмолиза, °С					
	48	50	52	54	56	58

**Материалы и оборудование.** Листья лука или традсканции, раствор нейтрального красного (1:5000), фильтровальная бумага, 1М раствор сахарозы. Лезвия бритвы, пробирки, колбы емкостью 500 мл, химические стаканы емкостью 200 мл, карандаши по стеклу, термометры, кисточки, предметные и покровные стекла, микроскопы.

### 3. УСТОЙЧИВОСТЬ К НЕБЛАГОПРИЯТНОМУ ВОДНОМУ РЕЖИМУ

#### 3.1. Засухоустойчивость растений

В результате длительного отсутствия дождей, которое сопровождается высокой температурой воздуха возникает засуха. Наибольший вред она причиняет в весеннее и летнее время, когда идут рост и формирование генеративных органов растений.

**Атмосферная засуха** характеризуется высокой температурой и низкой относительной влажностью воздуха (10–20 %). Обычно весной. Ее можно вызвать и избыточным увлажнением почвы при искусственном орошении. У растений усиливается транспирация, при хорошем развитии корневой системы не причиняет им большого вреда.

**Почвенная засуха** возникает после продолжительной атмосферной засухи и более опасна для растений. Наблюдается в середине или конце лета. Вызывает нарушение водного режима растений в связи с уменьшением (или исчезновением) доступной для растений воды в почве, что отражается на всех физиологических функциях, особенно резко снижается фотосинтез.

Растения используют три основных способа защиты от засухи:

- предотвращение излишней потери воды клетками (избегание высыхания);
- перенесение высыхания;
- избегание периода засухи.

**Засухоустойчивость** – способность растений переносить длительные засушливые периоды, значительный водный дефицит. При этом необходимо учитывать местообитание растений, продолжительность

Устойчивость к засухе выражается в том, что растения способны регулировать интенсивность транспирации за счет работы устьичного аппарата, сбрасывания листьев и даже завязей. Для более засухоустойчивых видов и сортов характерны развитая корневая система, достаточно высокое корневое давление, значительная водоудерживающая способность тканей, обусловленная накоплением в вакуолях осмотически активных веществ (углеводов, органических кислот, ионов минеральных веществ). Изучение приспособлений листьев к затрудненным условиям водоснабжения (В. Р. Заленский, 1904) показало, что анатомическая структура листьев растений закономерно изменяется в зависимости от ярусности. Растения в более засушливых условиях отличаются меньшими размерами, формируют ксероморфную структуру листьев как одно из анатомических приспособлений к недостатку воды.

Для защиты от засухи выращивают засухоустойчивые виды и сорта растений, специальные приемы предпосевной обработки семян и орошение.

### **Работа 19. Защитная роль эпидермиса и пробковой ткани**

Покровные ткани – эпидермис и пробка являются хорошей защитой органов от высыхания и проникновения инфекции. Вызревшие клубни картофеля покрыты пробковой тканью и поэтому обладают хорошей лежкостью. Стебли травянистых растений покрыты эпидермисом, также предохраняющим от излишних потерь воды и т. д.

**Цель работы:** определить количество испаренной воды за время опыта клубнями картофеля, покрытыми пробкой и без нее. Определить количество испаренной воды стеблями травянистых растений (например, пеларгонии) с эпидермисом. Определить количество испаренной воды стеблями древесных растений (например, бузины) с пробкой и без нее. Рассчитать, во сколько раз увеличилась потеря воды у органов лишенных покровных тканей. Какая ткань лучше защищает от потери воды: эпидермис или пробка?

**Ход работы.** Берут два близких по массе и форме клубня картофеля и по два отрезка стеблей травянистых и древесных растений длиной по 10 см. С одного клубня картофеля скальпелем снимают покровную ткань, с одного стебля травянистого растения осторожно снимают (соскабливают) скальпелем эпидермис, листья срезают. Также поступают с кусочком стебля древесного растения. Верхний и нижний кончики отрезков стеблей опускают в расплавленный парафин, во избежание испарения через поперечные срезы. Избыток застывшего парафина снимают. Затем все отрезки стеблей и клубни картофеля взвешивают. Клубни картофеля этикетированы химическим

карандашом, а к стеблям привязываются ниткой маленькие бумажные этикетки.

Все отрезки стеблей и клубни картофеля кладут на открытом воздухе в лаборатории на 7 дней. В конце опыта все объекты взвешивают. Данные записывают в таблицу.

Таблица 19.1. **Определение количества испаренной воды**

Растение	Масса исследуемого материала, г	
	В начале опыта	В конце опыта
1		
...		

**Материалы и оборудование.** Клубни картофеля, кусочки стеблей травянистых и древесных растений, лезвия бритвы, карандаши по стеклу, парафин, лабораторные весы, бумага для этикеток.

### **Работа 20. Определение засухоустойчивости растений**

Засухоустойчивость – способность растений переносить значительное обезвоживание, а также перегрев клеток, тканей и органов.

Существуют следующие прямые методы изучения засухоустойчивости растений: 1) полевой – непосредственное изучение состояния растений в засушливых условиях; 2) испытание растений в засушниках; 3) метод завядания, где растения испытывают в вегетационных сосудах при дефиците влаги (без полива).

К лабораторным методам изучения засухоустойчивости относится способность растений выносить обезвоживание, оценивая использование недостаточного водоснабжения на ранних этапах онтогенеза. Для этого определяют количество проросших семян на растворах сахарозы с высоким осмотическим давлением, чем создаются искусственные условия физиологической сухости, позволяющие определить относительную засухоустойчивость растений.

**Цель работы:** определить засухоустойчивость зерновых (пшеницы, ржи, ячменя, тритикале, кукурузы); зернобобовых (гороха, люпина, вики); овощных (огурца, томата).

**Ход работы.** В четыре чашки Петри помещают кружки фильтровальной бумаги. Наливают в каждую чашку по 10 мл растворов сахарозы следующей концентрации: первая чашка – 2М раствор сахарозы, вторая – 1М, третья – 0,5М, четвертая – 0,25М. Отбирают четыре порции неповрежденных семян каждого вида растений и равномерно раскладывают их в чашках и по 10 штук в каждую. Чашки закрывают крышками, подписывают и помещают в темное место. Через неделю подсчитывают количество проросших семян в каждом

варианте. Вычисляют осмотический потенциал растворов сахарозы Результаты опытов записывают в таблицу.

Опыт необходимо проводить в четырех повторностях. По результатам исследований делают выводы о засухоустойчивости различных растений.

**Таблица 20.1. Определение засухоустойчивости зерновых, зернобобовых и овощных культур**

Растение	Раствор сахарозы, М	Количество проросших семян, шт.	Осмотический потенциал растворов сахарозы
1	2		
	1		
	0,5		
	0,25		
2	2		
	1		
	0,5		
	0,25		

**Материалы и оборудование:** семена пшеницы, ржи, ячменя, тритикале, кукурузы, гороха, люпина, огурца, томата, 2М, 1М, 0,5М, 0,25М растворы сахарозы; чашки Петри, кружки фильтровальной бумаги, пипетки, фарфоровая чашка с водой, стеклянный колпак, установленный на куске стекла, стеклянные стаканчики, колбочки на 50 мл, черная светонепроницаемая бумага.

### **Работа 21. Определение водоудерживающей способности растений методом «завядания» по Арланду**

Водоудерживающие силы, обусловленные в основном содержанием в клетках осмотически активных веществ и способностью коллоидов к набуханию, играют значительную роль в регулировании водообмена растений. Водоудерживающая способность клеток зависит от условий питания растений, их водообеспечения, химического состава, температуры окружающей среды и других факторов. Чем выше водоудерживающая способность растений, тем они более устойчивы к неблагоприятным условиям среды (недостаток влаги). Растения считают устойчивыми, если за 30 минут они теряют не более 6 % воды от своей массы.

Определение водоудерживающей способности по Арланду основано на учете потери воды завядающим растением в течение двухчасового периода через каждые 30 минут.

**Цель работы:** научиться определять водоудерживающую способность растений методом «завядания» Арланда.

**Ход работы.** Берут 15-дневные растения овса или пшеницы, выращенные при различных уровнях минерального питания и водо-обеспечения (варианты опыта). Осторожно извлекают из песка по 10 растений с каждого варианта и отделяют надземную часть от корней.

**Таблица 21.1. Определение водоудерживающей способности растений**

№ п/п	Показатель	Вариант опыта			
		1	2	3	4
1	Количество растений, шт.				
2	Масса растений, г:				
	а) исходная				
	б) через 30 мин				
	в) через 60 мин				
	г) через 90 мин				
3	Потеряно воды растениями, г, в период:				
	а) 0–30 мин				
	б) 30–60 мин				
	в) 60–90 мин				
4	Потеряно воды растениями, % от исходной массы, в период:				
	а) 0–30 мин;				
	б) 30–60 мин;				
	в) 60–90 мин;				
	г) 90–120 мин				

Надземную массу всех растений каждого варианта взвешивают на аналитических весах. Растения аккуратно расставляют в штативы или раскладывают на столе так, чтобы они не касались друг друга и не мешали испарению воды листьями. Через 30 минут, 1 час, 1 час 30 минут и 2 часа на тех же весах делают повторное взвешивание.

По разности первого и повторного взвешиваний определяют количество потерянной воды испытуемыми растениями за каждые 30 минут. Делают пересчет количества потерянной воды в процентах от исходной массы за каждые 30 минут опыта. Результаты записывают по форме таблицы. По количеству потерянной воды за каждые 30 минут судят о водоудерживающей способности растений, выращенных при различных условиях питания и водообеспечения.

По полученным результатам строят диаграмму, характеризующую динамику водоотдачи у растений.

**Материалы и оборудование.** 15-дневные растения овса или пшеницы, весы, штативы, лезвия.

### **Работа 22. Определение засухоустойчивости растений проращиванием семян на растворах сахарозы**

Способность растений на первых этапах развития экономно использовать влагу в условиях недостаточного водоснабжения служит одним из важных биологических и хозяйственно полезных признаков вида и сорта. Определяя

количество проросших семян на растворах с высокой концентрацией осмотически активных веществ, имитирующей условия физиологической сухости, представляется возможным определить на ранних этапах онтогенеза относительную засухоустойчивость видов и сортов растений.

**Цель работы:** определить засухоустойчивость зерновых (пшеницы, ржи, ячменя, тритикале, кукурузы); зернобобовых (гороха, люпина, вики); овощных (огурца, томата) прораиванием семян на растворах сахарозы.

**Ход работы.** В три чашки Петри на фильтровальную бумагу помещают по 50–70 семян. Фильтровальную бумагу увлажняют растворами сахарозы с осмотическим потенциалом -10, -14 и -18 атм и ставят на проращивание. Подсчет проросших семян осуществляют на третьи и седьмые сутки.

Таблица 22.1. **Определение засухоустойчивости растений**

Осмотический потенциал раствора, атм.	Количество семян в пробе, шт.	Количество проросших семян на третьи сутки		Количество проросших семян на седьмые сутки	
		шт.	% от общего количества	шт.	% от общего количества
-10					
-14					
-18					

Их количество рассчитывают в процентах от общего числа семян. Результаты опыта записывают по форме таблицы.

**Материалы и оборудование.** Семена пшеницы, проса, гороха, вики, кукурузы, ячменя, растворы сахарозы с осмотическим потенциалом -10; -14; -18 атм., чашки Петри, фильтровальная бумага.

### **Работа 23. Определение засухоустойчивости растений по содержанию прочносвязанной фракции хлорофилла *a* и *b***

Устойчивость растений к засухе тесно связана с состоянием пигментного комплекса. При повышении температуры, ухудшении влагообеспеченности повышается активность хлорофиллазы, разрушается хлорофилло-белково-липоидный комплекс. Обнаруживая эти изменения, представляется возможным определить относительную устойчивость растений к засухе. Метод основан на определении прочносвязанной фракции хлорофилла *a* и *b*, который экстрагируют при помощи полярных (ацетон) и неполярных (бензин фракции 43–122°) растворителей с последующим спектрофотометрированием.

**Цель работы:** определить засухоустойчивость растений по содержанию прочносвязанной фракции хлорофилла *a* и *b*.

**Ход работы.** В условиях лабораторных опытов двухнедельные проростки различных по засухоустойчивости сортов оставляют в одной серии сосудов без полива, в другой серии проростки выращивают при влажности почвы 60 % ППВ. После наступления в первой серии устойчивого завядания отбирают

пробы листьев, в которых определяют содержание пигментов. Для этого берут от четырех-пяти растений листья верхнего яруса, измельчают их (можно брать высежки пробочными сверлами диаметром 6 мм), тщательно перемешивают и из средней пробы взвешивают три навески на аналитических весах по 200 мг каждая. Навески переносят в ступки, добавляют CaCO<sub>3</sub> и растирают. Затем добавляют небольшими порциями 80%-ный ацетон и растирают окончательно до гомогенной консистенции. Содержимое ступки количественно переносят на фильтр Шота № 3 и № 4 и фильтруют при помощи вакуумного насоса в колбу Бунзена (в колбе Бунзена устанавливают сахарную воронку, пробирку на 20 мл для удобства извлечения фильтрата), тщательно вымывая пигменты из осадка ацетоном. Затем фильтрат из пробирки переносят в мерную колбу на 50 мл. Фильтрат доводят до заданного объема и на спектрофотометре (СФ-4 или СФ-16), определяют величины экстинкции для хлорофилла *a* и *b* при соответствующей длине волны (для *a* – E<sub>663</sub>, для *b* – E<sub>645</sub>).

Расчет проводят по формулам:

$$\text{Хлорофилл } a \text{ (C}_a\text{)} = 12,7 E_{663} - 2,69 E_{645};$$

$$\text{Хлорофилл } b \text{ (C}_b\text{)} = 22,9 E_{645} - 4,63 E_{663};$$

$$\text{Сумма хлорофиллов (C}_a\text{+C}_b\text{)} = 8,02 E_{663} + 20,2 E_{645}.$$

Определяют концентрацию хлорофилла в мг/л. Для расчета количества пигментов на 1 г сырого вещества используют формулу:

$$\text{Хлорофилл} = \frac{K \cdot V}{P}, \quad (2)$$

где  $K = C_a$ ;  $K = C_b$ ;  $K = (C_a + C_b)$ ;

$V$  – объем разведения;

$P$  – навеска.

Пересчет количественного содержания пигментов на грамм сухого вещества листьев проводят путем составления пропорции с использованием уже известных величин количества хлорофилла в 1 г навески, сырого вещества. Результаты опыта записывают по следующей схеме (табл. 2.3).

Таблица 23.1 **Определение засухоустойчивости растений**

Вариант	Содержание пигментов на грамм сухого вещества	Выводы о засухоустойчивости

**Материалы и оборудование.** Растения двух-трех сортов, различающихся по засухоустойчивости, CaCO<sub>3</sub>, 80%-ный ацетон. Пробочные сверла диаметром 6 мм, ножницы, ступки, фильтры Шота, вакуумный насос, колбы Бунзена, сахарные пробирки на 20 мл, мерные колбы на 50 мл, спектрофотометр.

## Работа 24. Определение засухоустойчивости растений методом крахмальной пробы

Засухоустойчивые растения сохраняют более высокую синтетическую способность при действии засухи и содержат больше крахмала, чем растения с низкой устойчивостью.

**Цель работы.** Определить засухоустойчивость растений с помощью метода крахмальной пробы.

**Ход работы.** В опытах сравнивают растения одного вида, но получившие различную обработку, изменившую их засухоустойчивость.

В 11–12 ч дня в солнечную погоду, когда в листьях скапливается значительное количество крахмала, срывают пять-десять листьев опытных растений (листья одного яруса) и оставляют их в тени на 2–3 ч. Затем каждый лист или его часть (4–5 см) обесцвечивают спиртом и определяют крахмал, действуя раствором Люголя.

Результаты (среднее арифметическое) выражают по шкале: 1 – крахмала нет, 2 – крахмал есть, 3 – крахмала много. Результаты опыта записывают по схеме (табл. 24.1).

**Материалы и оборудование.** Листья растений, различающиеся по засухоустойчивости, спирт, раствор Люголя. Пинцет, химические стаканы.

Таблица 24.1. Определение засухоустойчивости растений

Вариант	Количество баллов	Выводы о засухоустойчивости

### 3.2. Переувлажнение как источник стресса

В среднем около 10 % всех посевных площадей в мире подвержено частичному или полному затоплению, составляющему зачастую до 20 % в отдельных регионах Восточной Европы (ФАО 2002). Это приводит к заметному недобору урожая, уступающему по величине лишь потерям при засухе. Избыточное переувлажнение почвы вызывает условия гипоксии или аноксии, т. е. временный дефицит или отсутствие кислорода в корнеобитаемой зоне. Наиболее часто в условиях дефицита кислорода оказываются озимые хлеба (пшеница, рожь, ячмень).

При затоплении ухудшаются условия жизнедеятельности корней: не удовлетворяются потребности в  $O_2$  анаэробная микробиологическая деятельность повышает уровень восстановленности и затрудняет поглощение веществ. Растения избегают анаэробноз путем формирования аэренхимы, а также выработали ряд приспособительных механизмов для преодаления неблагоприятных последствий в результате длительного затопления.

## Адаптивные признаки устойчивости к затоплению у зерновых культур

Показатели	Признаки
Фенология	Энергия прорастания семян. Длинный вегетационный период. Покой (семян или тканей всего растения). Медленный рост
Морфология и анатомия	Развитие узловых придаточных корней. Выживание зародышевых корней. Формирование аэренхимы. Усиленное развитие межклеточников
Питание и токсичность элементов питания	Глубина проникновения и длина корней. Функция клеток по поглощению элементов питания, включая избирательность поглощения Хлороз листьев
Метаболизм корней	Пониженная ИД. Анаэробный катаболизм. Высокая концентрация углеводов. Устойчивость к аноксии. Устойчивость к фитотоксинам
Восстановление после затопления	Потенциал репарации. Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты

### Работа 25. Влияние внешних условий на процесс гуттации

Корневая система способна не только всасывать воду из почвы, но и активно нагнетать ее в стебель с определенной силой, называемой корневым давлением. Если количество нагнетаемой корнями воды больше количества воды, испаряемой надземными органами, то наблюдается гуттация – выделение капель на кончиках листьев.

**Цель работы:** определить влияние температуры на размеры гуттации у проростков злаков. Определить влияние степени аэрации почвы на интенсивность гуттации. Определить влияние влажности воздуха на скорость гуттации.

**Ход работы.** Взять шесть вазонов с проростками. Первый вазон поставить в кристаллизатор с водой комнатной температуры; второй – с водой, нагретой до 35–40 °С; третий – со льдом или снегом. Уровень воды в кристаллизаторах должен быть ниже краев сосуда. Температура должна контролироваться и поддерживаться на одном уровне на протяжении всего опыта. Четвертый вазон поместить в кристаллизатор с водой комнатной температуры так, чтобы она полностью покрывала почву слоем до 1 см.

Пятый и шестой вазоны оставить на столе. Удалить кусочками фильтровальной бумаги имеющиеся на проростках капли жидкости, после чего

закрывать пять первых вазонов колпаками или стаканами. В этих различных условиях оставить растения в течение всего опыта. Примерно через полчаса, когда в почве установится соответствующая разница в температуре, начинают наблюдения. Приподняв колпак (или химический стакан), осторожно снимают фильтровальной бумагой, укрепленной на проволочке, появившиеся на кончиках растений капельки воды и снова опускают колпак (стакан). Тут же записывают время и следят (по времени) за появлением новых капелек у тех же растений. Отсчеты проводят три раза, а затем вычисляют, среднее арифметическое из трех наблюдений. Цифровые результаты записать в табл. 25.1.

Таблица 25.1. Влияние внешних факторов на скорость гуттации

Изучаемые факторы	Вариант опыта	Скорость гуттации (количество капелек)			Среднее значение
Температура	Комнатная				
	Повышенная (35–40 °С)				
	Пониженная				
Аэрация	Низкая (почва залита водой)				
	Нормальная влажность воздуха				
	Повышенная (воздух насыщен водяными парами)				

Сравните полученные результаты и сделайте выводы о том, как влияют температура, аэрация почвы и влажность воздуха на нагнетательную деятельность корневой системы. Зарисуйте гуттирующие всходы.

**Материалы и оборудование.** Маленькие вазоны с 3–4-дневными проростками овса, пшеницы, ячменя или других растений, холодная и горячая вода, снег или лед, электроплитка, термометры, кусочки фильтровальной бумаги, химические стаканы, кусочек проволоки, кристаллизаторы (большие).

### Работа 26. Зависимость роста от влажности почвы

Влажность почвы существенно влияет на рост растений. Повышение влажности почвы до 60–70 % от наименьшей влагоемкости сказывается благоприятно на рост, так как для нормального прохождения процессов роста необходима высокая степень насыщенности цитоплазмы водой. При достаточном водоснабжении процессы синтеза преобладают над процессами гидролиза. При недостатке воды в почве стадия растяжения заканчивается слишком рано, а стадия дифференциации начинается у клеток, ещё не достигших полных размеров. В результате получают мелкоклеточные и более низкорослые растения. В более сухой почве рост корней большинства растений уже невозможен.

**Цель работы:** пронаблюдать влияние влажности почвы на рост растений пшеницы, ячменя, люпина, огурца, томатов.

**Ход работы.** Растения предварительно выращивают в вазонах с почвой. Отбирают по четыре вазона каждого вида с приблизительно одинаковыми растениями. Все вазоны помещают в условиях одинаковой освещенности. Два вазона каждого вида ежедневно поливают, два других оставляют без полива. Через две-три недели у растений производят измерения высоты и массы и делают вывод о влиянии влажности почвы на рост различных растений.

**Материалы и оборудование:** растения пшеницы, ячменя, люпина, огурца, томата, выращенные в вазонах с почвой.

### **Работа 27. Определение устойчивости растений к вымоканию**

Вымокание растений наблюдается весной или зимой при естественных оттепелях. Вода скапливается на поверхности почвы и затопляет растения, которые могут погибнуть вследствие недостатка кислорода и накопления продуктов анаэробного дыхания в тканях. Наибольшая чувствительность растений к избытку влаги проявляется на ранних этапах их развития – в период набухания семян, до прорастания. Поэтому оценить устойчивость растений к вымоканию можно по прорастанию семян в условиях избыточного увлажнения.

**Цель работы:** определить устойчивость к вымоканию пшеницы, ржи, тритикале.

**Ход работы.** Отбирают по 10–25 шт. семян каждого вида, помещают в стерильные кристаллизаторы, заполненные водой на 3–5 см, и оставляют при комнатной температуре на пять суток, после чего семена переносят в проращиватели с раствором Кнопа и оставляют еще на 5–7 суток. Подсчитывают число нормально развитых проростков. Опыт ставят в двух повторностях. На основании полученных данных сопоставляют устойчивость исследованных растений к вымоканию. Результаты записывают в табл. 27.1.

Таблица 27.1. Анализ устойчивости растений к вымоканию

Вид растений	Количество проросших семян, %	Выводы об устойчивости к вымоканию

**Материалы и оборудование:** семена пшеницы, ржи, тритикале, раствор Кнопа, кристаллизаторы, проращиватели.

### **Работа 28. Влияние внешних условий на процесс гуттации**

В поддержании и регулировании водообмена растений существенная роль принадлежит нагнетательной деятельности корневой системы, одним из

проявлений которой является гуттация – выделение капельножидкой влаги на листьях. Из внешних условий на гуттацию сильное влияние оказывают влажность воздуха, аэрация почвы, температура корнеобитаемой среды и др.

**Ход работы.** Берут четыре сосуда с проростками, политыми за час до начала работы теплой водой. Один сосуд оставляют на столе, три других ставят в кристаллизаторы. Один кристаллизатор заполняют водой комнатной температуры, другой – водой, нагретой до 30 °С, третий заполняют снегом или льдом. Сосуд на столе оставляют открытым, а остальные накрывают стеклянными колпаками, предварительно удалив с помощью фильтровальной бумаги имеющиеся на листьях капли влаги.

Проводят сравнительные наблюдения, во время которых отмечают появление первых капель гуттационной воды на кончиках листьев, а также интенсивность гуттации исследуемых растений в разных вариантах опыта. Время фиксируют. Результаты записывают по форме таблицы.

Таблица 28.1. **Влияние внешних условий на процесс гуттации**

Условия опыта	Интенсивность гуттации	
	время наступления процесса момента закладки опыта, мин	количество капель за 15 мин, шт.
Без колпака, комнатная температура (18–20 °С)		
Под колпаком: 0 °С 8–20 °С 30 °С		

**Материалы и оборудование:** 5–8-дневные проростки овса, ржи, ячменя или пшеницы; кристаллизаторы (3 шт.), стеклянные колпаки (3 шт.), снег или битый лед, термометр, фильтровальная бумага.

#### 4. УСТОЙЧИВОСТЬ К ЭДАФИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ

Корнеобитаемая среда является источником ряда стрессоров абиотической природы. Часто наблюдается их совместное действие. В нашей зоне наибольшее повреждающее воздействие из эдафических факторов оказывает уплотнение почвы, повышенная кислотность почв, а также дисбаланс минеральных элементов питания (минеральный стресс). Также к стрессорам корнеобитаемой среды относится переувлажнение (заболачивание) почвы, о котором речь шла в разделе 3 и загрязненность почв радионуклидами и тяжелыми металлами, что мы рассмотрим в следующем разделе.

## 4.1. Устойчивость к уплотнению почвы

Уплотнение почвы возникает из-за сближения частиц почвы в результате внешнего воздействия. На окультуренных почвах чрезмерное уплотнение приводит к ослаблению внутреннего дренажа, ингибированию роста и развития корневой системы, вследствие чего растение испытывает дефицит воды и питательных веществ. В конечном итоге это приводит к снижению урожайности, качества урожая, а также повышению чувствительности к другим стрессорам.

Проблема уплотнения весьма актуальна, поскольку механические нагрузки на почву возросли за последнее время многократно, прежде всего в связи с интенсификацией сельскохозяйственного производства. Весьма негативным для полевых культур является чрезмерное поверхностное уплотнение почвы. Оно препятствует проникновению воды в почву, вызывая достаточно продолжительное затопление колеи колес и увеличивая, таким образом, риск водной эрозии.

Что касается уплотнения подпахотных горизонтов почвы, под которым понимают чрезмерное уплотнение почвы ниже нормального пахотного горизонта (обычно 15–25 см). Этот тип уплотнения может вызвать гораздо более серьезное снижение урожайности, чем поверхностное уплотнение.

Оптимальная плотность суглинистых дерново-подзолистых почв для выращивания зерновых культур находится чаще всего в пределах 1,1–1,3 г/см<sup>3</sup>; пропашных – 1,1–1,2 г/см<sup>3</sup>; для песчаных и супесчаных почв – 1,2–1,5 г/см<sup>3</sup>.

Уплотнение почвы влечет за собой нарушения роста не только корней, но и листьев растения. Уменьшается общая площадь листьев растения (формируются более узкие листья) и ИЛП, а также концентрация хлорофилла. Одновременно снижается интенсивность фотосинтеза. Уплотнение почвы снижает поступление элементов питания в растение.

При наличии подплужной подошвы, ограничивающей рост корней в глубину, часто увеличивается количество корней в верхних слоях почвы. Это обуславливает меньшее проникновение корней в более глубокие слои почвы, сохраняя их, таким образом, в поверхностных слоях и увеличивая образование боковых корней. Пропашные культуры особенно чувствительны к уплотнению и снижение их урожая может достигать более 50 %.

## 4.2. Минеральный стресс

Дефицит элементов питания в почве оказывает крайне негативное влияние на урожайность сельскохозяйственных культур. Именно недостаточное обеспечение минеральными удобрениями обусловило некоторое снижение производства сельскохозяйственной продукции в Беларуси за последние годы.

Проявление дефицита или избытка каждого элемента специфично для определенной культуры. Поступление элементов минерального питания взаимосвязано. Нехватка молибдена и кобальта способствует развитию недостатка азота; снижение содержания калия, магния и цинка вызывает нарушения в фосфорном обмене, а дефицит цинка приводит к понижению уровня кальция, калия и магния.

### Признаки недостатка элементов минерального питания

Элемент	Внешние признаки недостатка
1	2
Азот	Бледно-зеленая, желтая окраска листьев, оранжевые, красные тона, низкорослость, высыхание, некрозы, слабое кущение, признаки ксероморфизма
Фосфор	Мелкие узкие листья, сине-зеленая окраска с пурпурным или бронзовым оттенком (задержка синтеза белков и накопление сахаров), черная окраска старых листьев, корневая система слабо развивается, буреет, корневые волоски отмирают
Калий	Листья желтеют, затем становятся красно-фиолетовыми, розеточные формы, слабо развиты механические и проводящие ткани, растения «обваренные»
Кальций	Ослизнение клеточных стенок, слабое развитие корневой системы, торможение фотосинтеза, растения отстают в росте, растения подвядают из-за нарушения работы устьиц, снижается устойчивость к неблагоприятным факторам среды
Сера	Подобны симптомам N-голодания, хлороз листьев (но молодых), повреждение начинается с верхушки растений, желтеют жилки листьев, а паренхима остается зеленой, затем от основания листа появляются красноватые пятна мертвых тканей, торможение роста корневой системы
Магний	Хлороз и некроз листьев: жилки остаются зелеными, а ткань между ними желтеет, затем отмирает, пожелтение начинается с нижних листьев, при длительном голодании листья становятся белыми, типично опадение взрослых листьев, меньше образуется пестичных цветков, из-за усиления окислительных процессов, задерживается цветение, цветки менее интенсивно окрашены
Железо	Глубокий хлороз в развивающихся листьях, которые могут быть совершенно белыми, замедление энергообмена растения – фотосинтез и дыхание, опадают бутоны, уменьшаются междоузлия, отмирают точки роста, плохо формируется корневая система
Бор	Нарушаются ритм деления клеток и структура клеточных стенок, появляются уродливые изменения в формирующихся листьях конуса нарастания, на заключительной стадии борного голодания в клетке накапливаются токсичные хиноны, которые приводят к отмиранию конусов нарастания, на яблоках и грушах формируется «поверхностная пробковая ткань»
Медь	Задержку роста и цветения, хлороз, завядание листьев, хлороз кончиков листьев и пустозерность у злаков, суховершинность у плодовых культур
Марганец	Разрушается хлорофилл, на листьях появляются бледно-желтые полосы, у злаков листья сворачиваются, рост замедляется, ослабление дыхания
Цинк	Резкое торможение роста и формирования побегов, растения приобретают розеточные формы, на листьях вдоль жилок появляется светло-зеленая окраска, затем эта зона быстро увеличивается и появляются пятна отмерших тканей, разрушаются точки роста, иногда в листьях образуются антоцианы
Молибден	Рост растений тормозится, особенно чувствительны к недостатку Mo бобовые и овощные культуры, хлороз старых листьев, нарушается азотный и фосфорный обмен, уменьшается синтез белка

**Сортовая отзывчивость полевых культур на удобрения.** Существует два основных типа реакции полевых культур на внесение удобрений. Одни способны давать хороший урожай и на низком агрофоне, но на высоком не дают соответствующей прибавки урожая (*low input*), другие – отзывчивы на применение удобрений, но реализуют потенциальную продуктивность только на высоком агрофоне (*high input*). Для агрономической практики важны генотипы с широкой нормой реакции, достаточно продуктивные на низком агрофоне и одновременно отзывчивые на внесение высоких доз удобрений.

К первому типу сортов (*low input* – малоприхотливых форм), относятся генотипы, сохраняющие свойства агрохимической эффективности на низком агрофоне. Для них характерны низкая концентрация элементов в тканях растения и высокая скорость синтеза органического вещества (Saric, 1983). Сюда можно также отнести генотипы, обладающие свойством усваивать труднодоступные фосфаты почвы, а также имеющие повышенный потенциал несимбиотической азотфиксации. Примером могут служить растения райграсса, у которых при увеличении количества вносимых удобрений происходит снижение показателей эффективности использования азота, а урожайность сухой биомассы поначалу хотя и повышается, но постепенно выходит на плато.

Второй тип агрономически эффективных сортов (*high input*) должен обеспечивать нормальное функционирование высокоурожайных высококачественных ценозов, дающих экологически безупречную и экономически выгодную продукцию в диапазоне оптимальных – высоких доз минеральных удобрений и прежде всего азотных. Они отличаются высокой концентрацией элементов в тканях растения и высокой скоростью синтеза органических веществ (Saric, 1983). Такие сорта должны обладать повышенной «азотоёмкостью» (Куперман, 1984), экономически окупая азот урожаем высокобелковой биомассы или зерна.

Выбор фона для создания агрономически эффективных сортов определяется типом сорта и заданной моделью. Сорта первого типа должны создаваться на обедненных и бедных фонах. Последние могут быть получены путем намеренного истощения почвы за счет интенсивного насыщения севооборота культурами с большим выносом элементов питания, размещения посевов по плохому предшественнику или в конце севооборотного звена. Сорта второго типа, удовлетворяющие требованиям экологии и экономики, целесообразно селекционировать при внесении азотных удобрений в дозах не менее 120 кг N /га. Естественно, что дозы удобрений (как и их сочетания) носят региональный характер и должны разрабатываться и уточняться для каждой конкретной почвенно-климатической ситуации. Сорта новой селекции более отзывчивы на удобрения и их использование экономически более оправдано, чем сортов старой селекции.

В среднем в общей прибавке урожая на долю удобрений и средств защиты растений приходится 65 %, а сорта – 35 %. Для районов с недостатком влаги

роль сорта в эффективном использовании удобрений особенно велика. Сортоиспытание необходимо проводить в условиях разной обеспеченности минеральным питанием.

У большинства зерновых и масличных культур селекция на урожайность зерна тормозится из-за отрицательной корреляции между показателями урожайности зерна и содержанием белка и масла в зерне (Qury et. al., 2003, Kade et. al., 2005). Однако удалось идентифицировать линии пшеницы с более высокой белковостью, чем можно было ожидать из отрицательной корреляции с урожайностью. Установлено также, что как урожайность, так и белковость положительно реагируют на дополнительную азотную подкормку. На гибридах кукурузы, полученных из Иллинойских высоко- и низкobelковых линий, показано, что сильный генетический контроль состава зерновки можно изменить благодаря положительному эффекту азота на аттрагирующую способность зерновки и синтез запасного белка (Uribelarrea et. al., 2004). Эти данные открывают новые перспективы по преодолению отрицательной корреляции между урожайностью и белковостью зерна путем соответствующих скрещиваний высокоурожайных и высокобелковых сортов. Кроме того, это позволит точнее оценить относительный вклад процессов поглощения и использования поглощенного азота в отложение белка в запас в зерновке на низком и высоком фоне азота (Uribelarrea et. al., 2007).

### **Работа 29. Антагонизм ионов**

При выращивании растений на растворах, содержащих одну чистую соль даже слабой концентрации, наблюдается резкое угнетение роста растений. Токсическое действие чистых солей снимается при добавлении к взятому солевому раствору ионов других солей той же или другой валентности. Это обусловлено явлением, получившим название антагонизма ионов. Подбирая различные концентраций отдельных ионов, можно составить такую их комбинацию, при которой растения будут развиваться лучше всего. Такие растворы называются уравновешенными.

**Ход работы.** В стаканчики наливают почти до верха (по 100 мл) растворы химически чистых солей. В первый стаканчик наливают 0,12 н. р. NaCl, во второй – 0,12 н. р. KCl и в третий – раствор CaCl<sub>2</sub>. В четвертый стаканчик наливают смесь из всех трех солей в таком соотношении: на каждые 100 мл 0,12 н. р. NaCl приливают по 1 мл 0,12 н.р. KCl. Стаканчики закрывают марлевыми крышками, в которых сделаны небольшие отверстия для посадки проростков. Проростки пшеницы (4–5-дневного возраста) тщательно отбираются по величине зерна и корешков и высаживаются на марлю в одинаковом количестве на стаканчик.

Корешки погружают в раствор. Спустя одну–две недели измеряют длину проростков, количество и длину корней и делают соответствующие выводы. Результаты опыта записываются в табл. 29.1. Сравните полученные результаты и сделайте выводы.

Таблица 29.1. Действие антагонизма ионов на рост растений

Вариант	Растворы	Количество раствора, мл	Длина надземной части, см	Длина корней, см
1	Смесь: NaCl, CaCl <sub>2</sub> , KCl	100; 1,0; 2,2		
2	CaCl <sub>2</sub>	100		
3	NaCl	100		
4	KCl	100		

**Материалы и оборудование:** проросшие семена пшеницы; растворы химически чистых солей KCl, CaCl<sub>2</sub>, NaCl (0,12 нормальные).

### Работа 30. Антагонизм ионов на примере различного набухания протоплазмы клеток

Антогонистическое действие солей обуславливается противоположным влиянием ионов на физико-химические свойства цитоплазмы, в частности на степень ее оводненности. Ионы, вызывающие оводнение цитоплазмы, уменьшают ее вязкость и вызывают с наступлением округлой формы плазмолиза. В случае обезвоживающего действия ионов на цитоплазму она становится более вязкой, форма плазмолиза вогнутая или судорожная.

**Ход работы.** Готовят два среза эпидермиса чешуи луковицы с антоциановой окраской, помещают их на стекла, один в каплю 1,0 н раствора азотнокислого калия, другой – 1,0 н раствора азотнокислого кальция. Через 5–10 минут, просматривая срезы под микроскопом, отмечают форму плазмолиза. Результаты опыта записывают по форме табл. 30.1. Зарисовывают отдельные клетки с разной формой плазмолиза.

Таблица 30.1. Влияние катионов на набухание протоплазмы

Вариант опыта	Форма плазмолиза	Причина
KNO <sub>3</sub> Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		

**Материалы и оборудование:** луковицы с антоциановой окраской эпидермиса, 1,0 н растворы KNO<sub>3</sub> и Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, предметные стекла, препаровальные иглы, микроскопы.

### Работа 31. Визуальная диагностика минерального питания

В ее основе лежит наблюдение за изменением окраски, появлением на листьях и стеблях пятен, полос, некрозов тканей и отклонениями в анатомии и морфологии растений.

Проявление дефицита или избытка каждого элемента специфично для определенной культуры. Сложность визуальной диагностики состоит и в том, что признаки недостатка элементов минерального питания очень схожи с признаками заболеваний или действием неблагоприятных факторов, могут одновременно проявляться признаки недостатка или избытка двух, или нескольких элементов питания, могут появляться, исчезать и снова возобновляться в зависимости от погоды, проникновения корней в почву и изменения потребностей растений в элементах питания в онтогенезе.

Существенным недостатком листовой диагностики является появление внешних признаков лишь при значительном голодании. Поэтому необходим систематический внимательный осмотр одиночных растений, что позволяет корректировать применение удобрений в течение вегетации и в последующие годы.

При визуальной диагностике следует обращать внимание на то, где появляются характерные изменения. При недостатке реутилизируемых элементов (N, K, P, Mg) они оттекают из ранее образовавшихся частей растений в молодые, формирующиеся органы. Их недостаток прежде и ярче всего проявляется на закончивших рост старых листьях. Недостаток нереутилизируемых или слабореутилизируемых элементов (Ca, Fe, S и всех микроэлементов) отражается на самых молодых частях растений. При избытке все элементы накапливаются в уже сформированных органах, и поэтому изменения их внешнего вида свидетельствуют о токсичности элемента.

### **4.3. Устойчивость растений к кислотности почвы**

Кислые почвы составляют 30–40 % площадей пахотных земель во всем мире и до 70 % земель, которые потенциально могут использоваться как пахотные. Доля кислых почв в мире постоянно увеличивается. Кислые почвы особенно распространены в Нечерноземной зоне, на Урале и в Приморье. В Беларуси в связи с сокращением объемов известкования их доля растет ежегодно.

Для решения проблем кислотности почв обычно применяют известкование карбонатом кальция, что повышает pH и способствует переходу алюминия в менее токсичные формы. Что особенно важно, этот агротехнический прием улучшает также использование растениями фосфора, поскольку кислые почвы часто имеют низкое содержание доступных его форм. Однако уровень pH подпахотного слоя при известковании повышается очень медленно. Запахивание органических удобрений и растительных остатков оказывает положительное влияние поскольку гуминовые и органические кислоты формируют в почвенном растворе комплексы с алюминием, переводя его в нетоксичную форму.

Низкое плодородие кислых почв является следствием сочетания многих факторов таких, как минеральная токсичность, обусловленная присутствием алюминия и марганца и дефицитом фосфора, кальция, магния и молибдена.

Однако преобладающим фактором, ограничивающим урожайность культур, является алюминиевая токсичность. Алюминий, перешедший из почвенных минералов в почвенный раствор в условиях кислой среды, представлен такими формами, как  $Al(OH)_2^+$ ,  $Al(OH)_2^{2+}$  и  $Al(H_2O)$ . Уже в микромолярных концентрациях алюминий быстро ингибирует рост корней. У пшеницы наиболее токсичное действие оказывают ионы  $Al^{3+}$ , в то время как у двудольных растений –  $Al(OH)_2^+$  и  $Al(OH)_2^{2+}$ .

Подвижные формы алюминия являются главным фактором токсичности на кислых почвах. Растения угнетаются при содержании подвижного алюминия около 3–4 мг, а погибают при 7–8 мг /100 г почвы.

Алюминий оказывает достаточно быстрое влияние на все клеточные функции. Поэтому весьма сложно выделить первоначальный эффект алюминия на клетки растений и отделить причину токсичности от следствия.

Растения некоторых видов отвечают на действие алюминия повышенным синтезом гемицеллюлозы, целлюлозы и пектина. Однако удерживая алюминий в апопласте, эти углеводы могут в дальнейшем препятствовать росту клеток растяжением. Индуцированное алюминием ингибирование поглощения  $K^+$  путем блокирования калиевых каналов также может препятствовать тургорзависимому растяжению клеток. Помимо быстрой аккумуляции в клеточных стенках и апопласте корней, алюминий у неустойчивых видов растений накапливается в плазматической мембране и в симпласте, влияя на многие этапы роста корней. Именно плазматическая мембрана была предложена в качестве первичной мишени токсичного действия алюминия. Прочно связываясь с плазмалеммой, алюминий вызывает ее деполяризацию.

Первичные биохимические нарушения в результате действия алюминия могут быть обусловлены формированием комплекса алюминия с кальмодулином, Са-зависимым регуляторным белком. Кальций, являясь вторичным мессенджером, запускает в клетках каскад процессов для противодействия токсичности алюминия. Растущие клетки корня в ответ на воздействие алюминия аккумулируют каллозу. Поэтому ее накопление в апопласте используется в качестве раннего симптома токсического действия алюминия. Накоплены данные, свидетельствующие о том, что именно цитоскелет является первичной мишенью алюминиевой токсичности у растений.

Устойчивость к алюминию можно обеспечить с помощью двух механизмов: путей выведения алюминия из апекса корня или благодаря внутриклеточной устойчивости к действию алюминия, поступающего в симпластическое пространство.

Первый механизм основан на выделении карбоксилатного экссудата корневым апексом, а второй – на хелатировании и детоксикации алюминия в симпласте карбоксильными анионами.

Центральную роль в обеспечении устойчивости растений к действию подвижных форм алюминия играют органические кислоты. Активация

карбоксилатного транспортера, который предположительно присутствует на плазматической мембране клеток корня, является важной частью этого механизма устойчивости, корневая слизь и точечное отмирание эпидермальных клеток корня обеспечивают диффузионные барьеры для алюминия.

### **Работа 32. Смещение рН питательного раствора корневой системой растений**

С помощью корневых выделений растения активно воздействуют на тот субстрат, на котором растут. Они могут изменять ионный состав и кислотность почвы из-за различных относительных скоростей поглощения анионов и катионов, из-за выделения в среду образовавшихся при дыхании анионов  $\text{HCO}_3^-$ , активного транспорта протонов клетками поверхности корня наружу, из-за выделения, неорганических и органических кислот и других соединений.

**Цель работы:** определить способность корневой системы растений к смещению рН питательного раствора.

**Ход работы.** Готовят четыре раствора питательной смеси Кнопа с рН 5; 6; 7 и 7,8. Для этого в четыре химических стакана наливают равные объемы смеси Кнопа. Прибавлением определенного количества капель 0,01 н раствора NaOH или HCl устанавливают необходимый рН раствора, определяя его величину на иономере (рН-метре) после тщательного перемешивания.

Таблица 32.1. **Определение рН питательной смеси**

Вариант	рН питательной смеси	
	в начале опыта	в конце опыта
1	5,0	
2	6,0	
3	7,0	
4	7,8	

Приготовленные растворы наливают в пробирки, погружают в них корни проростков пшеницы (или других растений) и через 2 часа определяют значение рН в питательном растворе. Результаты опыта записывают по форме табл. 32.1.

**Материалы и оборудование:** проростки пшеницы, гороха и других растений, раствор полной питательной смеси Кнопа, 0,01 н раствор NaOH, 0,01 н раствор HCl, химические стаканы, пробирки, штативы для пробирок, пипетки, рН-метр.

### **Работа 33. Проницаемость протоплазмы в зависимости от рН раствора**

Этот опыт показывает, что адсорбция и проницаемость веществ в клетку зависят от реакции среды, в частности от концентрации водородных ионов, и

объясняет то большое влияние, которое оказывает величина рН на усвоение клетками растений минеральных веществ.

**Ход работы.** Готовят два среза эпидермиса с выпуклой поверхности чешуи луковицы, кладут их на предметные стекла. Первый срез заливают буфером с рН 7,5, а второй – рН 4,5. Затем на срезы наносят краситель нейтральрот. Через 2–3 минуты срезы отмывают соответствующим буфером и рассматривают под микроскопом. Обращают внимание на окрашивание цитоплазмы и клеточной стенки.

**Материалы и оборудование:** лук, изоцитратный буфер рН 4,5 и рН 7,5, краситель нейтральрот, фильтровальная бумага, лезвия, препаровальные иглы, микроскопы.

#### 4.4. Солеустойчивость растений

Засоление является одним из самых серьезных постоянно действующих отрицательных факторов, определяющих величину и качество урожая сельскохозяйственных культур.

Состав водорастворимых солей в почвенном растворе и твердой фазе почвы бывает весьма разнообразным и представляет сочетание из следующих катионов и анионов:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ . Исходя из содержания анионов, различают хлоридное, сульфатное, сульфатно-хлоридное, карбонатное засоление, причём самым токсичным для растений считается хлоридное засоление.

Содержание солей в верхнем горизонте почвы подвергается заметным колебаниям, и оно зависит от времени года, состава солей, водного режима в том числе орошения, температуры воздуха, наличия в почве восходящих и нисходящих токов воды, переносящих легкорастворимые соли.

Люпин и ячмень занимают крайние полюса солеустойчивости среди культур. Даже ячмень погибает при концентрации солей выше 250 мМ NaCl, что составляет примерно 50 % от засоленности морской воды. Пшеница, как правило, менее устойчива, чем ячмень, однако диапазон внутривидовой изменчивости у нее такой широкий, что трудно сделать однозначный вывод. Фасоль – одна из самых солечувствительных культур, но добавление в питательный раствор дополнительного количества  $\text{Ca}^{2+}$ , как и для других культур, резко повышает солеустойчивость.

При определении солеустойчивости культурных растений необходимо учитывать следующее:

- солеустойчивость не остается постоянной в течение онтогенеза, наиболее чувствительной, как правило, оказывается фаза цветения;
- засоление оказывает неодинаковое влияние на накопление вегетативной массы и хозяйственно-полезной части урожая, что лежит в основе представлений о биологической и агрономической солеустойчивости;
- степень отрицательного влияния засоления зависит от почвенно-

климатических факторов, причём в условиях прохладного климата растения проявляют большую солеустойчивость, чем в аридном жарком климате;

– проявляются четкие сортоспецифические различия по солеустойчивости, зачастую превышающие межвидовые различия. Более того, в рамках каждого сорта, как популяции, встречаются отдельные особи, существенно различающиеся по степени солеустойчивости, особенно при сильном засолении;

– установлена разная неоднозначная солеустойчивость отдельных органов растения: в одних исследованиях больше подавляется рост корня, а в других – побега. Отрицательное влияние солей на зону растяжения корня начинает проявляться при более низком засолении, чем на меристематическую зону.

### Работа 34. Определение солеустойчивости растений

Устойчивость растений к повышенному содержанию солей в почве называется солеустойчивостью. Засоление почвы объясняется наличием большого количества солей, главным образом натриевых. Вредное действие засоления почвы проявляется, прежде всего, в том, что задерживается набухание семян, т. е. снижается всхожесть семян и интенсивность роста проростков.

К косвенным лабораторным методам определения солеустойчивости растений относятся: плазмолитический, определение скорости раскрытия устьиц в растворах солей, по количеству альбуминов, по проницаемости протоплазмы и др.

При определении солеустойчивости растений по интенсивности ростовых процессов показателем устойчивости является количество проросших семян в растворах соли по сравнению с проращением их в дистиллированной воде.

**Ход работы.** Отобранные семена каждого вида раскладывают в чашки Петри по 10–25 шт. Семена предварительно обрабатывают раствором формалина в течение 3–5 мин, а чашки Петри и фильтровальную бумагу стерилизуют в термостате при 150° в течение 1 часа. В чашки наливают по 10 мл растворов: 1-й вариант – 5%-ный раствор NaCl; 2-й – 7%-ный раствор NaCl; 3-й – 10%-ный раствор NaCl; контроль – дистиллированная вода.

Все чашки с семенами оставляют при комнатной температуре на 5–7 дней. По окончании проращивания в каждом варианте определяют число проросших семян и находят среднее по двум повторностям. Число проросших семян в дистиллированной воде принимают за 100 %, а в растворах соли вычисляют в процентах от контроля. Результаты опыта записывают в табл. 34.1.

Таблица 34.1. Определение солеустойчивости растений

Вид растений	Вариант опыта	Число проросших семян, шт. и/или %	Вывод о солеустойчивости

Сделайте выводы о солеустойчивости опытных растений.

**Материалы и оборудование:** семена ячменя, кукурузы, томата; 5%-, 7%- и 10%-ные растворы NaCl, раствор формалина (1 мл на 300 мл воды); чашки Петри, фильтровальная бумага, пипетки.

### **Работа 35. Определение солеустойчивости растений по количеству альбуминов в зеленых листьях**

Большее содержание альбуминов является показателем большей солеустойчивости растений.

**Ход работы.** Навеску свежих листьев исследуемых растений (2 г) растирают с 10 мл воды, вытяжку очищают от взвесей центрифугированием или фильтрованием. Затем 5 мл вытяжки вносят в градуированную центрифужную пробирку и добавляют в нее сухой сернокислый аммоний до полного насыщения (примерно 15 г). Через 15 мин после растворения соли выпавшие в виде геля альбумины центрифугируют 3 мин при 4000–5000 об/мин и учитывают объемное (по делениям пробирки) количество альбуминов. Результаты записывают в табл. 35.1.

Таблица 35.1. Определение содержания альбуминов

Вариант	Содержание альбуминов, мл	Выводы о солеустойчивости

**Материалы и оборудование:** два-три сорта, различающиеся по солеустойчивости, сухой  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Ступки с пестиком, колбочки на 50 мл, воронки с фильтром, центрифуги, весы, пипетки на 10 мл, градуированные центрифужные пробирки.

### **Работа 36. Определение солеустойчивости растений по степени выцветания хлорофилла (по Генкелю)**

При ухудшении влагообеспеченности, под воздействием солей происходит деструкция хлоропластов, нарушается синтез хлорофилла *a* и *b*, изменяется прочность связей в хлорофилл-белково-липоидном комплексе пластид. Определить солеустойчивость растений можно по скорости и степени выцветания хлорофилла.

**Ход работы.** Листья растений двух-трех сортов, различающихся по солеустойчивости, срезают под водой у основания черешка (используют листья одного яруса). Контрольные растения помещают черешками в воду, опытные – в 2–4%-ные растворы NaCl или  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и выдерживают на рассеянном свете 7 суток. Под влиянием солей в результате разрушения хлорофилл-белкового комплекса происходит постепенное выцветание хлорофилла (изменение общей окраски листьев или появление бледных участков – солевых пятен, площадь которых во время опыта увеличивается).

Изменение окраски листьев отмечают на 3-и и 7-е сутки. У солеустойчивых сортов выцветание хлорофилла идет быстрее и в большей степени. Результаты опытов записывают в табл. 36.1.

**Таблица 36.1. Определение солеустойчивости растений по изменению окраски листьев**

Вариант	Изменение окраски листьев		Выводы о солеустойчивости
	3-й день	7-й день	

**Материалы и оборудование:** растения сортов различной солеустойчивости, 2–4%-ные растворы NaCl или Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Кристаллизаторы, химические стаканы по 100 мл.

## **5. УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАГРЯЗНИТЕЛЯМ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

В связи с активной производственной деятельностью человека катастрофическими темпами растет загрязнение воздуха. Системы саморегуляции биосферы уже не в состоянии справиться с этой угрозой. В промышленно развитых странах воздух загрязняют транспорт (52,6 %), отопительные системы (18,1 %), промышленные процессы (17,9 %), сжигание мусора (1,9 %). В результате различных видов деятельности человека в воздух выделяется более 200 различных компонентов. К ним относятся газообразные соединения углекислый, угарный и сернистый газы, окислы азота, соединения фтора, углеводороды, пары серной, сернистой, азотной, соляной кислот, фенола), твердые частицы (сажа, зола, пыль, содержащие токсичные окислы свинца, цинка и др.), что является важным фактором глобального потепления.

Одновременно в результате загрязнения атмосферы фреонами снижается толщина озонового слоя, являющегося защитным экраном для живых организмов от жесткого УФ-излучения. Все это в сочетании с загрязнением газообразными соединениями и твердыми частицами может оказать крайне негативное влияние на структуру и физиологохимические процессы в растениях, результатом чего является снижение урожайности.

### **5.1. Влияние радиации на физиологические и молекулярно-генетические процессы в растениях**

Ультрафиолетовое излучение (УФ) является важным экологическим фактором, влияющим на растения. Оно входит в состав электромагнитного излучения солнца и составляет около 7 % общей солнечной радиации, достигающей поверхности земли.

В умеренных дозах УФ-излучение оказывает благотворное действие на растение – усиливает обмен веществ, повышает иммунитет. Однако увеличение

УФ-В-радиации вызывает у растений многочисленные прямые и косвенные реакции, включая повреждение ДНК, белков, мембран.

Эффекты, вызываемые УФ-излучением, обнаруживаются на всех уровнях организации растений, от молекулярного до организменного.

В основе всех нарушений, наблюдаемых на клеточном уровне, лежат механизмы повреждения УФ-излучением биологических молекул. Эти нарушения обусловлены в основном фотохимическими изменениями пиримидиновых оснований в ДНК, а также фотоинактивацией белков. В конечном итоге нарушаются ферментативная, регуляторная, транспортная и другие функции белков вследствие нарушения их структуры.

УФ-излучение вызывает фотоповреждение белков и фосфолипидо:плазматических мембран; окисление липидов мембран по свободнорадикальному механизму с образованием гидропероксидов с последующим и фотохимическим расщеплением и получением стабильных конечных продуктов. Кроме белков липидов и ДНК, в результате поглощения радиации теряют активность витамины, подвергаются деструкции фитогормоны и другие биологически активные вещества.

УФ оказывает системное воздействие на растение, влияя на устьичную проводимость водяных паров и  $\text{CO}_2$  в лист, а также множество других физиологических процессов, начиная от дыхания, транспорта минеральных солей до угнетения роста и развития растений, угнетение развития генеративных органов, ослабление апикального доминирования.

Приводит к снижению площади листьев, УФ-В радиация повышает толщину листьев. Одновременно изменяются свойства поверхности листьев, что может увеличить рассеивание и отражение света и, соответственно, снизить количество световой энергии, доступной для фотосинтеза.

Среди морфологических приспособлений, обеспечивающих защиту растений от ультрафиолета, можно выделить такие, как наличие кутикулы и воскового налета, опушенность листьев, лигнификацию и полное одревеснение клеток эпидермиса, его многослойность.

УФ прямо ингибирует фотосинтез, нарушает функционирование ФС-II, снижает активность ФС-I, хотя и в меньшей степени, чем ФС-II, разрушает пластохиноны, нарушает мембранные структуры, ингибирует электронный транспорт, связанный со второй фотосистемой, ингибирует систему разложения воды и подавляет реакцию Хилла, меняет выход флуоресценции хлорофилла, а в изолированных хлоропластах и целых листьях.

### **Работа 37. Влияние на растение различных концентраций регуляторов роста**

Высокие концентрации регуляторов роста не стимулируют, а угнетают рост растения и даже могут привести его к гибели. Чувствительность к высоким дозам у разных растений неодинакова, что позволяет использовать их для

борьбы с сорняками. Для уничтожения двудольных сорных растений в посевах злаковых применяют производные феноксипропаноной кислоты, в частности 2,4-дихлорфеноксипропановую кислоту, аминная соль которой хорошо растворима в воде.

В концентрациях 0,01–1 % аминная соль 2,4-Д подавляет рост и развитие сорных двудольных растений и не повреждает растения семейства Мятликовых. Но необходимо строго соблюдать концентрацию и расход раствора на единицу площади, так как в очень низких концентрациях гербицид 2,4-Д аминная соль может стимулировать ростовые процессы, а в более высоких концентрациях (выше 1 %) угнетать рост и развитие всех растений в агроценозах.

**Цель работы:** определить влияние концентрации 2,4-дихлорфено-кси уксусной кислоты на развитие растений.

**Ход работы.** Берут по 4 сосуда с 7–10-дневными проростками овса и гороха, опрыскивают из ручного пульверизатора 0,005; 0,2 и 2,0%-ными растворами 2,4-Д из расчета 20 мл на сосуд. Такие же растения (контрольные) опрыскивают водопроводной водой в том же количестве.

Описывают состояние растений перед опрыскиванием (в начале опыта) и через неделю после опрыскивания (в конце опыта) и делают вывод о действии различных концентраций 2,4-Д на их развитие. Результаты записывают по форме табл. 37.1.

Таблица 37.1. Действие аминной соли 2,4-Д на развитие растений

Показатель	Варианты опыта			
	контроль	0,005 % 2,4-Д	0,2 % 2,4-Д	2,0 % 2,4-Д
1. Количество растений, шт. до опыта после опыта				
2. Высота растений (средняя), см до опыта после опыта				
3. Число листьев (среднее на растение), шт. до опыта после опыта				
4. Фаза развития до опыта после опыта				

**Материалы и оборудование:** 7–10-дневные проростки овса и гороха (по 4 сосуда), 0,005; 0,2 и 2,0%-ный раствор аминной соли 2,4-Д, ручные пульверизаторы, линейка.

### Работа 38. Влияние предпосевной обработки на прорастание семян

В настоящее время существует множество приемов предпосевной обработки семян, рекомендуемых для практического использования, которые, несомненно, оказывают положительное влияние на рост растений и урожайность.

Поскольку действующие факторы разные, а вызываемый ими эффект имеет много общих черт, предполагают, что в основе предпосевного стимулирования лежат общие физические процессы. Все используемые факторы действуют как фоновые раздражители живой протоплазмы, повышающие жизнедеятельность, возбудимость и проницаемость цитоплазмы, активность ферментов. Общий характер реакции растений на обработку определяется дозой и продолжительностью действия.

**Цель работы:** определить роль предпосевной обработки на прорастание семян.

**Ход работы.** В три чашки Петри на фильтровальную бумагу раскладывают по 25–50 семян льна, свеклы, моркови и других растений. Первую чашку (контроль) оставляют в помещении, вторую ставят в термостат для прогревания при температуре 32–35 °С на 4 часа. Третью облучают в течение 7–10 минут под кварцевой установкой.

Две партии семян по 100 г опрыскивают: одну 0,15%-ным раствором эпина (или другого стимулятора роста), вторую – 0,1%-ным раствором сернокислой меди. Объем растворов для опрыскивания – 6 мл. Из каждой партии семян берут по 25 шт. и раскладывают в чашки Петри на фильтровальную бумагу. Затем фильтры во всех пяти чашках смачивают водой комнатной температуры, чашки закрывают крышками, которые изнутри выстилают смоченной в воде фильтровальной бумагой для создания влажной камеры и ставят на проращивание. Через 7 дней опыт разбирают, определяют количество проросших семян, измеряют длину корней и стеблей. Результаты записывают по форме в таблицу и делают выводы.

Таблица 38.1. Влияние предпосевной обработки на прорастание семян

Варианты предпосевной обработки семян	Количество проросших семян		Средняя длина, см	
	шт.	% к контролю	корня	стебля
1. Контроль				
2. Температура				
3. Ультрафиолетовое облучение				
4. Микроэлементы				
5. Стимуляторы роста				

**Материалы и оборудование.** Семена льна, моркови, свеклы и др., 1%-ный раствор сернокислой меди, 0,15%-ный раствор эпина, чашки Петри, фильтровальная бумага, термостат, кварцевая установка, линейки.

## 6. УСТОЙЧИВОСТЬ К БИОТИЧЕСКИМ И ЦЕНОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ

Растение – это открытая система, постоянно обменивающаяся со средой веществом, энергией и информацией. Взаимодействие растений между собой определяет фитоценоз с животными и микроорганизмами – биоценоз, с совокупностью экологических факторов биотической и абиотической природы – биогеоценоз. Ценоотические взаимодействия объектов чрезвычайно разнообразны.

В популяции возможны как положительные взаимодействия, так и отрицательные. Регуляция их определяется морфолого-биологическими, анатомическими и физиолого-биохимическими особенностями видов растений, составляющих фитоценоз, их устойчивостью, аллелопатическими и симбиотическими отношениями.

Ценоотические взаимоотношения растений и среды обеспечивают разнородность популяции, которая проявляется в результате конкуренции за факторы жизни и пространство. Менее приспособленные особи и виды заменяются более адаптированными и конкурентоспособными, происходит отбор, являющийся движущей силой эволюции.

Различают специфические и неспецифические отношения. Специфическими являются конкурентные и симбиотические взаимоотношения, а неспецифическими – экологические воздействия.

Одним из факторов ценоотической регуляции является аллелопатия растений – их взаимное влияние друг на друга с помощью выделяемых ими физиологически активных химических веществ. Эти вещества могут выполнять роль ингибиторов или стимуляторов. Наибольшей активностью обладают корневые выделения. В сельскохозяйственной практике под аллелопатическим взаимодействием обычно понимают конкурентные отношения растений в природе.

Аллелопатия как способ ценоотической регуляции, как правило, носит узкоспецифичный характер и является результатом совместной эволюции видов. В связи с этим ее важно учитывать при севообороте растений. Большинство культурных растений имеют слабую аллелопатическую активность, в отличие от сорняков, которые достаточно легко угнетают другие виды и в целом ухудшают состояние почвы. Чтобы избежать подобных проблем, следует ознакомиться с основными примерами аллелопатического влияния растений друг на друга.

Механизмы, регулирующие видовой состав сообщества, определяют и обилие видов, и их жизненное состояние. Конкуренция в ценозе регулирует численность особей. У хлебных злаков густота стеблестоя контролируется интенсивностью кущения. Важное значение имеет и формирование фотосинтетического потенциала посева и индекса листовой поверхности. Чем больше вегетативная биомасса, тем интенсивнее фотосинтетическая

деятельность и отток питательных веществ к формирующимся семенам. Вместе с тем избыточное кущение и нарастание биомассы определяют усиление конкуренции за факторы жизни, в растении усиливается мобилизация запасных веществ из вегетативных побегов на формирование зерна. Ввиду конкуренции за свет стебли вытягиваются, что приводит к полеганию посева.

В ценозе различают конкурентную силу растения, которая определяется усиленным ростом, повышенной фотосинтетической деятельностью, продуктивностью и т. д., а также конкурентную выносливость – способность растений минимизировать потребность к ресурсам. Первыми гибнут особи, у которых конкурентная сила меньше, а минимальный уровень потребления выше.

Кроме конкурентных отношений, в биоценозе проявляются и стимулирующие влияния организмов друг на друга, такие взаимоотношения носят название симбиотических. В симбиоз с автотрофными растениями вступают грибы, актиномицеты, бактерии, водоросли. Наибольшее значение в агрономии имеет симбиоз бобовых культур с азотфиксирующими бактериями.

При возделывании культур с выраженными симбиотическими отношениями необходимо учитывать биологические особенности всех симбионтов и создавать благоприятные условия для их взаимодействия.

В ценотической регуляции также принимают участие фитогормоны и гормоноподобные вещества. Так, выделение поврежденным растением этилена и жасмонатов является предупредительным сигналом для остальных растений популяции о воздействии стрессора. Уловив такой сигнал, растения запускают адаптационные программы, еще не испытав воздействия стресса.

Продуктивность фитоценозов зависит и от морфофизиологических особенностей составляющих их растений. Оптимизация морфотипа растений – важная задача физиологов и селекционеров. Концепция модели сорта, успешно используемая в селекции пшеницы, риса, кукурузы и других сельскохозяйственных культур, носит зональный характер. Например, короткостебельные сорта пшеницы в засушливые годы менее урожайны, чем сорта с длинным стеблем, так как фонды ассимилятов, реутилизируемые при наливе зерна, у короткостебельных сортов ограничены.

Высота растений определяет также ярусность ценоза. В естественных сообществах верхний ярус составляют светолюбивые растения, нижний – теневыносливые. Благодаря ярусности и плотности изменяется и температурный режим биоценоза. Поскольку удельная теплоемкость растительной массы выше, чем воздуха, то поступающая энергия большей частью поглощается фитомассой и меньше расходуется на нагрев воздуха. В результате днем температура воздуха в биоценозе ниже, чем на открытом месте. Ночью же при сокращении поступления солнечной энергии тепловая энергия излучается фитомассой и поглощается воздухом. В силу невысокой теплопроводности воздуха значительная часть тепловой энергии задерживается

в растительном покрове, и температура там оказывается выше, чем на открытом месте.

Проявлением устойчивости растения в ценозе является иммунитет, определяющие взаимодействие растения с биотическими стрессорами – патогенными микроорганизмами и грибами, а также вредителями.

Растительное сообщество как совокупность особей разных видов различных жизненных форм представляет собой единое целое, состояние которого в любой момент обусловлено причинно-следственными связями компонентов сообщества друг с другом и со средой. Однако это состояние не жестко детерминировано, а в определенной мере имеет случайный характер и зависит от состояния экзогенных и эндогенных факторов.

Используя и преобразуя факторы жизни, растения изменяют среду – поглощают минеральные вещества и образуют органические, преобразуют газовый состав атмосферы, участвуют в почвообразовании и т. д. Таким образом, с учетом особенностей ценологических взаимодействий весьма эффективным приемом регулирования роста и развития растений является управление экологическими факторами – регулирование светового, теплового, водного режима, условий питания и произрастания. Эти механизмы составляют основу агротехники и широко используются в растениеводстве.

### **Работа 39. Количественное определение содержания хлорофилла на фотоэлектроколориметре**

Содержание хлорофилла в растениях существенно меняется в зависимости от их возраста, яруса листьев и условий произрастания. Для анализа используют спиртовые вытяжки пигментов сельскохозяйственных растений, полученные в предыдущей работе. Содержание хлорофилла определяют при помощи фотоэлектроколориметра. Стандартом служит раствор Гетри, который соответствует раствору хлорофилла, содержащему 85 мг в литре.

Фотоколориметрирование основано на измерении количества света, прошедшего через окрашенный раствор (исследуемый) и стандартный раствор с заранее известной концентрацией искомого вещества. Определение проводят с помощью фотоэлементов, величина фототока которых в широком интервале линейно зависит от интенсивности падающего на фотоэлементы светового потока. Изменение фототока регистрируют гальванометром.

**Цель работы.** Определить содержание хлорофилла нспомощью фотоэлектроколориметра.

**Ход работы.** Прибор (фотоэлектроколориметр КФК-2) включают в сеть и устанавливают красный светофильтр с длиной волны 670 нм. После 15-минутного прогревания в световой пучок помещают кювету со спиртом и ручками «чувствительность», «установка 100 грубо и точно» устанавливают отсчет «О» оптической плотности. Затем в световой пучок вводят кювету с исследуемым раствором и снимают отсчет по шкале оптической плотности.

Измерения проводят 2–3 раза и берут их среднее значение. По калибровочному графику на основании величины оптической плотности определяют содержание хлорофилла в мг в одном литре раствора ( $a$ ). Рассчитывают содержание хлорофилла в растениях по формуле:

$$C_x = \frac{a \cdot V \cdot 100}{1000 \cdot H}, \quad (3)$$

где  $C_x$  – содержание хлорофилла в сырой массе, %;  
 $a$  – содержание хлорофилла в растворе, мг в литре;  
 $V$  – объем вытяжки, мл;  
 $H$  – навеска, мг.  
 Результаты исследований записывают в табл. 39.1.

Таблица 39.1. **Определение содержания хлорофилла в листьях**

Объект исследования	Навеска, мг	Объем вытяжки, мл	Оптическая плотность	Содержание хлорофилла, %	
				в сырой массе	в сухой массе

Расчет содержания хлорофилла в сухой массе производят по формуле:

$$C_{x. \text{сух}} = \frac{C_x \cdot 100}{100 - v}, \quad (4)$$

где  $C_{x. \text{сух}}$  – содержание хлорофилла в сухой массе, %;  
 $C_x$  – содержание хлорофилла в сырой массе, %;  
 $v$  – содержание воды в сырой массе, %.

**Материалы и оборудование:** спиртовые вытяжки сельскохозяйственных растений, фотоэлектроколориметр КФК-2.

**Приготовление раствора Гетри.** В мерную колбу на 100 мл наливают 28,5 мл 1%-ного раствора  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 50 мл 2%-ного раствора  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  и 10 мл 2 н раствора  $\text{NH}_4\text{OH}$ ; доливают дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают. Оптическая плотность такого раствора соответствует содержанию в 1 л 85 мг хлорофилла.

#### **Работа 40. Определение содержания хлорофилла в листьях растений, пораженных болезнями**

Заболевание растений сопровождается значительным ослаблением их фотосинтетической активности, что вызывается разнообразными причинами – частичным отмиранием листовой ткани, некрозами, хлорозом и т. п. Уменьшение содержания хлорофилла связано с разрушением хлоропластов,

происходящим под воздействием патогенной микрофлоры. Однако иногда наблюдается и повышение содержания хлорофилла вокруг пораженного места.

**Цель работы:** определить содержание хлорофилла в листьях, пораженных болезнями.

**Ход работы.** Берут листья сельскохозяйственных растений, пораженные болезнями. Вырезают поврежденную часть листа и выделяют участок здоровой листовой поверхности, непосредственно прилегающей к поврежденному участку. Таким образом, получают два образца. В каждом из них определяют содержание хлорофилла. Контролем служат листья здоровых растений. Для опыта можно выращивать растения в вегетационных сосудах и искусственно инфицировать их. Делают выводы о влиянии патогенной микрофлоры на фотосинтетическую активность растений.

**Материалы и оборудование:** здоровые и пораженные болезнями листья сельскохозяйственных растений, ножницы, этиловый спирт, аналитические весы, ступки, кварцевый песок, вакуумный насос, Шоттовская воронка, колба Бунзена, колбочки, стеклянные палочки, мерные цилиндры, фотоэлектроколориметр КФК-2.

#### **Работа 41. Определение устойчивости зерновых культур к полеганию по анатомическому строению стебля**

Полегание значительно снижает урожайность зерновых культур. Этому явлению обычно предшествуют постепенно нарастающие неблагоприятные изменения анатомо-морфологических и физиологических признаков растений. Для прогноза полегания определяют степень развития механических тканей у различных сортов, а также растений, подвергнутых обработке ретардантами

**Цель работы.** Определить устойчивость зерновых культур к полеганию с помощью изучения анатомического строения стебля.

**Ход работы.** Делают поперечные срезы из нижней части двух первых междоузлий главного стебля в фазе колошения – цветения. Перед изготовлением препаратов у каждого зафиксированного растения с помощью микрометра измеряют толщину средней части каждого междоузлия. Препараты изготавливают из средних частей междоузлий. Срезы толщиной 50–80 мкм выполняют вручную лезвием безопасной бритвы. Полученные срезы окрашивают флороглюцином. Из окрашенных срезов стебля изготавливают временные препараты в глицериновой среде.

Изучение гистологических и анатомических особенностей стебля проводится с использованием компьютерного анализатора изображений, включающего оптический микроскоп NikonEclipse 50i, видеокамеру NikonDS-Fi1, преобразователь сигналов Nikondigitalsight и компьютер (рис. 41.1, 41.2). Для изучения численных и линейных параметров анатомического строения стебля используется программа Coolview, а для сохранения изображений – программа NIS-Elements.

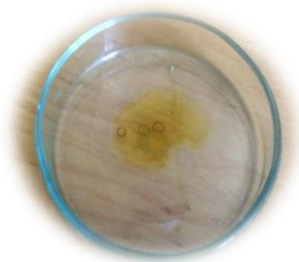


Рис. 41.1. Срезы стебля для изготовления временных препаратов

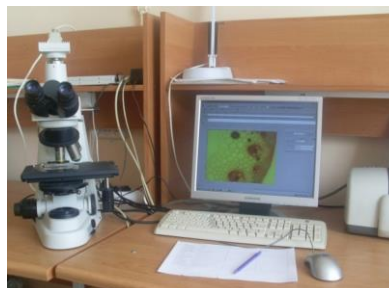


Рис. 41.2. Оптический микроскоп NikonEclipse 50i, видеокамера NikonDS-Fi1, преобразователь сигналов Nikondigitalsight, компьютер

Для оценки устойчивости образцов к полеганию используют следующие показатели: диаметр стебля; толщина стенки стебля; число малых проводящих пучков (ПП пк.), обслуживающих хлоренхиму стебля; число больших проводящих пучков (ПП пар.), расположенных в паренхиме центрального цилиндра; толщина слоя склеренхимы перициклического происхождения; число слоев клеток в склеренхиме перициклического происхождения.

Таблица 41.1. **Определение устойчивости зерновых культур к полеганию по анатомическому строению стебля**

Показатели	Вариант опыта		
	1	2	3
1) диаметр стебля; 2) толщина стенки стебля; 3) число малых проводящих пучков (ПП пк.), обслуживающих хлоренхиму стебля; 4) число больших проводящих пучков (ПП пар.), расположенных в паренхиме центрального цилиндра; 5) толщина слоя склеренхимы перициклического происхождения; 6) число слоев клеток в склеренхиме перициклического происхождения; 7) балл устойчивости к полеганию			

**Материалы и оборудование:** различные по устойчивости к полеганию растения зерновых культур, растения, обработанные регуляторами роста, лезвия, раствор флороглюцина, микрометр, глицерин, микроскопы, предметные и покровные стекла.

#### **Работа 42. Действие летучих выделений листьев растений на прорастание семян**

В естественных и культурных фитоценозах важным фактором в жизни растения является соседство других растений, которые выделяют различные соединения специфичного характера через корни и листья (в виде летучих веществ). Взаимное влияние растений через корневые или листовые выделения получило название аллелопатии. Аллелопатия – важное условие формирования естественных растительных сообществ; ее обязательно следует учитывать при создании смешанных посевов культурных растений. С теоретических позиций аллелопатия объясняет необходимость борьбы с сорняками, которые не только выступают в качестве конкурентов культурных растений за влагу, пищу, свет, но и подавляют их прорастание, рост и развитие посредством специфических выделений.

**Цель работы.** Изучить действие листовых выделений: пеларгонии на семена ячменя; бегонии на семена ячменя; традесканции на семена ячменя; алоэ на семена ячменя; сенполии (узумбарской фиалки) на семена ячменя.

**Ход работы.** Приготовить чашки Петри. Прорастить семена до слегка наклюнувшегося состояния, отобрать одинаковых размеров (крупных 10, мелких – 20 шт.) здоровые семена и разложить их на увлажненной фильтровальной бумаге по окружности снаружи от углубления, ограниченного бортиком из пластилина (рис. 42.1).

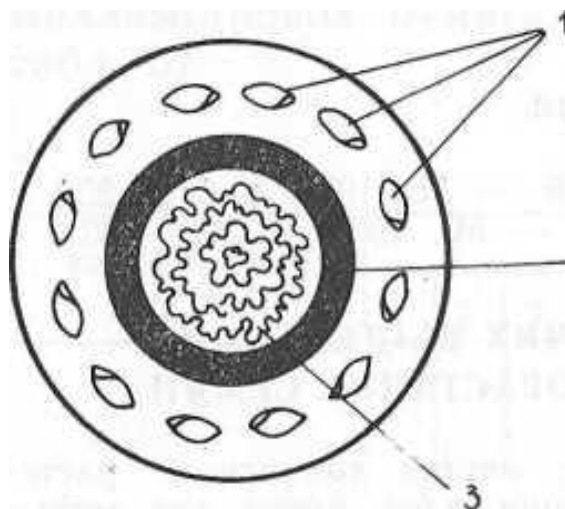


Рис. 42.1. Модель для изучения действия летучих растительных выделений на рост корней:  
1 – семена;  
2 – бортик из пластилина;  
3 – растительная каша

Затем 3–5 г листовой ткани растереть в фарфоровой ступке, добавив на кончике скальпеля немного кварцевого песка и 3 мл воды. Быстро перенести кашу в углубление в центре чашки и закрыть крыш кой с вложенным в нее кружком влажной фильтровальной бумаги. Отметить на этикетке вид растения, выделения которого изучаются, и фамилию исполнителя. Этикетку прикрепить ко дну чашки кусочком пластилина. Для контроля вместо кашицы используется вода.

Через неделю снять опыт. Подсчитать число семян, давших корешки, их процент от общего количества, измерить длину корешков с помощью линейки. Результаты записать по форме табл. 42.1.

**Таблица 42.1. Определение количества проросших семян  
и длины корешков**

Кол-во проросших семян, шт.	Длина корешков, мм									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	среднее

Сделать вывод о влиянии выделений данного вида растений на исследуемые семена в сравнении с контролем (вода).

Можно изучить и действие газообразных выделений комнатных растений на семена гороха. Интересные и показательные результаты дают опыты с использованием семян горчицы и льна, почек древесных и листьев сорных растений. По выбору преподавателя содержание задач можно менять. Общие результаты записать по форме табл. 42.2.

**Таблица 42.2. Определение действия летучих выделений листьев растений  
на прорастание семян**

Вид растения, действующего на семена	Вид семян	Процент проросших семян	Длина корешков (в среднем), мм

Сделать вывод о влиянии газообразных выделений изучаемых объектов на прорастание и длину корешков семян исследуемых видов.

**Материалы и оборудование:** листья комнатных растений пеларгонии, бегонии, традесканции, алоэ; почки или листья древесных растений сирени, каштана, тополя, черной смородины; листья сорных растений мокрицы, лебеды, пырея, осота полевого, семена ячменя, гороха, горчицы, льна; чашки Петри, фарфоровые ступки, фильтровальная бумага, пинцеты, пластилин, линейки, этикетки.