

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И КАДРОВ

Учреждение образования  
«БЕЛОРУССКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
ОРДЕНОВ ОКТЯБРЬСКОЙ РЕВОЛЮЦИИ  
И ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»

Кафедра ботаники и физиологии растений

*Н. А. Дуктова, А. И. Мыхлык, М. М. Зайцева*

## **ЧАСТНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ**

*Методические указания по выполнению лабораторных работ  
для студентов, обучающихся по специальностям*

*1-74 02 01 Агронмия,*

*1-74 02 02 Селекция и семеноводство*

Горки  
БГСХА  
2021

УДК 581.1(072)

ББК 28.57я73

Д79

*Рекомендовано методической комиссией  
агрономического факультета.  
Протокол № 2 от 27 октября 2020 г.*

Авторы:

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *Н. А. Дуктова*;  
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *А. И. Мыхлык*;  
ассистент кафедры ботаники и физиологии растений *М. М. Зайцева*

Рецензент:

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *А. С. Мастеров*

**Дуктова, Н. А.**  
Д79 Частная физиология сельскохозяйственных растений :  
методические указания по выполнению лабораторных работ /  
Н. А. Дуктова, А. И. Мыхлык, М. М. Зайцева. – Горки : БГСХА,  
2021. – 96 с.

Изложены методические указания по выполнению лабораторных работ и научных исследований в области физиологии и биохимии сельскохозяйственных растений.

Для студентов, обучающихся по специальностям 1-74 02 01 Агронмия, 1-74 02 02 Селекция и семеноводство.

**УДК 581.1(072)**

**ББК 28.57я73**

© УО «Белорусская государственная  
сельскохозяйственная академия», 2021

## ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Одной из основных задач, стоящих перед агрономической службой, является повышение урожайности и качества сельскохозяйственных растений. В современных условиях хозяйствования уровень интенсификации растениеводческой отрасли достаточно велик.

Дальнейшее повышение продуктивности за счет агротехнических приемов малоэффективно и экономически нецелесообразно. В сложившейся ситуации необходимый рост урожайности может быть обеспечен за счет внутренних резервов растения и формирования оптимальных условий для протекания продукционного процесса.

Для реализации этих задач необходимым инструментарием является познание физиологических особенностей отдельных видов сельскохозяйственных культур. Знание особенностей водного и минерального питания, пластического и энергетического обмена, процессов роста и развития, а также механизмов устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам позволит оптимизировать технологические приемы возделывания в соответствии с биологическими требованиями растения.

Исследование указанных вопросов является предметом учебной дисциплины «Частная физиология сельскохозяйственных растений».

Данное издание содержит указания по выполнению лабораторных работ по экспериментальному моделированию физиолого-биохимических процессов в растении с целью изучения механизмов реализации онтогенетической программы основных сельскохозяйственных культур и приобретения практических навыков для эффективного мониторинга и управления агроценозом.

## ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В физиолого-биохимических исследованиях используются следующие **методы**: полевой, вегетационный и лабораторный.

*Полевой метод* (опыт) широко используется в земледелии, растениеводстве, селекции, агрохимии для изучения влияния различных факторов (агротехники, экологических условий, условий минерального питания) на урожайность сельскохозяйственных культур.

*Лабораторные опыты* проводятся для изучения химического состава растений (белка, сахаров, жиров, витаминов и др.), физиологического состояния растений, моделирования физиолого-биохимических процессов в растениях, исследование морфологических, гистологических и цитологических особенностей строения растения и др.

*Вегетационный* (от лат. *vegetatio* – произрастание) *метод* исследования применяется для решения самых разных вопросов физиологии. Это опыт с растениями, выращиваемыми в небольших сосудах (вегетационных) в специальных домиках. Разновидности вегетационного опыта: почвенные, песчаные, водные культуры. Преимущества вегетационного метода: высокая точность данных (благодаря высокой однородности питательного субстрата, его выравненности, стабильности условий произрастания); достоверные данные можно получить за 1–2 года (в полевых опытах – 3–5 лет); позволяет использовать сложные схемы опытов, с помощью которых можно изучать влияние отдельных факторов роста (многофакторный анализ); позволяет моделировать внешние условия; позволяет увеличить число генераций в год.

Недостатком лабораторного и вегетационного опыта является то, что они не позволяют в полной мере смоделировать реальные условия агроценоза. Физиологические условия в ценозах существенно отличаются от тех, в которых существует отдельно стоящее растение, не испытывающее на себе воздействия биотических и абиотических стрессоров. Таким образом, практико-ориентированный подход к обучению предусматривает изучение физиологических процессов в растениях как в модельных опытах, так и в условиях производственного посева. Основными параметрами оценки физиологического состояния посевов полевых культур являются фенологические и морфометрические наблюдения за ростом и развитием, оценка водного, теплового и светового режимов, а также конкурентных взаимоотношений растений.

## ПРАВИЛА РАБОТЫ В ЛАБОРАТОРИИ

Прежде чем приступить к лабораторному практикуму, необходимо ознакомиться с оборудованием химической лаборатории, химической посудой, приборами, техникой химического эксперимента, а также с правилами техники безопасности.

**Источники потенциальной опасности в лаборатории.** В физиолого-биохимической лаборатории наиболее вероятными источниками несчастных случаев являются:

– химические вещества, в результате неумелого обращения с которыми может быть причинен вред здоровью (отравление, химические ожоги, травмы, аллергии), а также имуществу (пожары, взрывы, порча оборудования);

– газовые горелки, неумелое и неосторожное обращение с которыми может привести к ожогам и взрыву газа;

– стеклянная лабораторная посуда, в результате боя которой могут быть причинены порезы, а также повреждения находящимися в ней реагентами;

– острые колюще-режущие приборы и приспособления – источники возможного травматизма:

– лабораторные приборы и оборудование, при неумелом и неосторожном обращении с которыми могут быть причинены механические, физические травмы и поражение электрическим током:

– электрическая проводка и электрооборудование, являющиеся вероятным источником возникновения электротравм.

**Обязанности лиц, работающих в лаборатории.** Допуск студентов к занятиям в лаборатории разрешается только после знакомства с инструкцией по технике безопасности и вводного инструктажа, что фиксируется личной росписью прошедших инструктаж в соответствующем журнале.

Лица, грубо нарушившие правила работы и техники безопасности в лаборатории, отстраняются преподавателем от выполнения лабораторных работ до сдачи зачета по технике безопасности.

Ответственность за хранение реактивов, приборов, оборудования и материалов возлагается на лаборанта. Все реактивы должны находиться в соответствующей таре и быть этикетированными.

Каждый работающий должен знать, где в лаборатории находятся аптечка и средства для оказания первой медицинской помощи, инди-

видуальные средства защиты (при необходимости), средства пожаротушения (огнетушитель).

В конце занятий все студенты обязаны навести порядок на своем рабочем месте, проверить выключение электроэнергии, воды, приборов и аппаратов, убрать легко воспламеняющийся мусор, вымыть стеклянную посуду. После этого сдать рабочее место дежурным по лаборатории, которые в свою очередь сдают лабораторию лаборанту.

**Оформление отчета о выполнении и сдача лабораторной работы.** Работы выполняются бригадным способом. Каждый студент индивидуально оформляет отчет о выполнении работы. Отчет оформляется в общей тетради. На обложке тетради студент записывает свою фамилию, факультет, курс и номер группы. Страницы должны иметь рабочие поля шириной 3–4 см для замечаний преподавателя и пометок. Каждая работа оформляется с новой страницы.

Порядок оформления отчета включает следующие записи:

дата выполнения работы;

№ работы (в соответствии с № в лабораторном практикуме);

название лабораторной работы;

цель выполнения работы;

ход работы (в краткой форме);

результаты работы (таблица наблюдений, рисунки и др.);

выводы.

Для допуска к сдаче работы преподавателю студент должен выполнить работу и предъявить оформленный в соответствии с вышеуказанными требованиями отчет.

Сдача работ осуществляется в виде опроса в устной, письменной или тестовой форме. Опрос включает теоретическую часть по теме работы (понятия, закономерности, зависимости и др.) и практическую часть по выполнению задания (методы, способы проведения эксперимента, ход работы и др.). Результат сдачи работ отмечается путем представления отметки об оценке, либо зачете в отчете и журнале педагогического работника.

Эффективность работы студента при выполнении лабораторного практикума, а также результаты сдачи лабораторных работ учитываются при выставлении рейтинговой оценки по дисциплине.

### **Правила работы и техника безопасности в лаборатории.**

#### *Подготовка к выполнению работы.*

1. Перед началом работы необходимо надеть спецодежду. К работе в лаборатории не допускаются лица в открытой одежде. Длинные во-

лосы должны быть убраны под косынку, шапочку, заколоты в пучок, хвост или заплетены в косу.

2. Недопустимо нахождение в верхней одежде, а также хранение верхней одежды в лаборатории.

3. При выполнении работы не загромождайте рабочее место лишними предметами. Нельзя класть на лабораторные столы посторонние предметы (сумки, шапки и др.).

4. Необходимо внимательно ознакомиться с правилами выполнения лабораторной работы, а также подготовить конспект отчета.

5. Работающий должен знать основные свойства используемых и получаемых веществ, их действие на организм, правила работы с ними и на основе этого принять все меры для безопасности проведения работ.

6. Запрещено проводить опыты в грязной посуде, а также пользоваться для проведения опытов веществами из склянок без этикеток или с неразборчивой надписью.

7. В лаборатории запрещается принимать пищу, пить, курить и хранить продукты питания.

#### *Выполнение лабораторных работ.*

1. Студентам категорически запрещается без разрешения преподавателя проводить какие-либо опыты, не относящиеся к данной работе, или изменять порядок проведения опыта.

2. Выполнение лабораторной работы и каждого отдельного опыта требует строгого соблюдения всех указаний, содержащихся в описании работы. Опыт должен исполняться тщательно, аккуратно и без спешки.

3. Избегайте лишних движений и разговоров в лаборатории.

4. Реактивы и химические реагенты запрещается пробовать на вкус, нюхать, трогать руками.

5. Химические жидкости набирают с использованием химических пипеток с сифоном или резиновой грушей, или мерных цилиндров. Сухие соли – чистым шпателем или ложечкой. Отбирать необходимое количество реактива разрешено только на установленном рабочем месте.

6. При переливании реактивов нельзя наклоняться над отверстием сосуда во избежание попадания брызг на лицо и одежду. Нельзя также наклоняться над нагреваемой жидкостью, так как ее может выбросить. Никогда не направляйте открытый конец пробирки к себе или в сторону вашего соседа.

7. Знакомясь с запахом вещества, нельзя наклоняться над сосудом с жидкостью и вдыхать полной грудью. Для этого нужно направить рукой струю воздуха от отверстия сосуда к себе и сделать носом легкий вдох.

8. Избегайте непосредственных контактов кожи, глаз и дыхательных путей с химикатами.

9. Все работы с летучими веществами необходимо проводить только в вытяжном шкафу при работающей вентиляции. Створки, дверцы и заслонки вытяжных шкафов во время работы следует держать максимально закрытыми (до 18–20 см от его рабочей поверхности).

10. Измельчение твердых веществ, дающих едкую пыль, разбавление концентрированных кислот и щелочей и т. п. также нужно проводить в вытяжном шкафу в фарфоровой посуде, защитив глаза очками, а руки перчатками. Разбавляя концентрированные кислоты, особенно серную, осторожно вливают кислоту в воду.

11. С легко воспламеняющимися жидкостями нельзя работать вблизи нагревательных приборов. Запрещается нагревать летучие легковоспламеняющиеся жидкости, вещества (эфир, бензины, спирты, ацетон и т. д.) на открытом пламени. Для этого необходимо использовать водяную или масляную баню.

12. Перед использованием газовых горелок проверьте перекрытие выпускных кранов. При зажжении горелок во избежание ожога запрещается наклоняться над соплом и держать горелку в руках. Рабочий стол вокруг горелки должен быть свободным. При использовании горелки пользуются специальными держателями для химической посуды. Отверстие пробирки/колбы необходимо направлять от себя и окружающих во избежание выброса веществ. После завершения работы горелка выключается путем перекрытия газоподающего крана.

13. Перед началом работы с горелками нужно определить, является ли используемая посуда термостойкой, или нет. Также следует отмечать наличие повреждений на посуде, подвергаемой нагреву (сколы, трещины и т. д.). Термостойкое стекло на заводах-изготовителях помечают матовым белым символом, это может быть квадрат, прямоугольник или круг. Такую посуду можно нагревать непосредственно на электроплитке через сетку. Посуду без соответствующего символа можно подвергать нагреву только при помощи «бани» с соответствующим теплоносителем (вода, масло, глицерин, песок).

14. Нельзя нагревать закупоренные сосуды. Нельзя нагревать жидкости в толстостенной и мерной посуде (она может лопнуть).

15. Внимательно проводите сборку установок из стекла. При этом нельзя зажимать стеклянные изделия в лапки штативов без соответствующей мягкой прокладки. Особенно осторожно обращайтесь с тонкостенной посудой, термометрами и холодильниками.

16. При выполнении работ бережно расходуйте реактивы, электричество и воду. Нельзя оставлять без надобности включенные электроприборы и горящие горелки.

#### *Завершение работы в лаборатории.*

1. После выполнения работы необходимо навести порядок на рабочем месте.

2. Используемое оборудование и посуду необходимо очистить.

3. Нельзя выливать в раковину остатки растворителей, горючих веществ, реакционные смеси, растворы кислот, щелочей и других вредных веществ. Они собираются в специальную посуду («слив органики»).

4. Запрещено засорять раковины и сливы песком, бумагой, битой посудой и другими твердыми отходами, что приводит к выходу канализации из строя. Все твердые отходы следует выбрасывать в урну.

5. По окончании работ нужно немедленно отключить электроприборы, погасить газ и перекрыть воду.

6. Перед уходом из лаборатории рекомендуется тщательно мыть руки.

#### **Правила противопожарной безопасности.**

1. Осторожно обращайтесь с нагревательными приборами. Запрещается работать с неисправным оборудованием и приборами.

2. Категорически запрещается использовать для подключения электроприборы с оголенными проводами или с поврежденной изоляцией.

3. В случае воспламенения горючих веществ быстро выключите вентиляцию вытяжного шкафа, погасите горелку, обесточьте электронагревательные приборы, уберите сосуды с огнеопасными веществами.

4. В случаях пожара в лаборатории студенты должны немедленно покинуть лабораторию.

5. Правила тушения пожара:

а) горящие жидкости прикройте асбестом, а затем, если нужно, засыпьте песком, но не заливайте водой;

б) в случае возгорания одежды на человеке необходимо накрыть его одеялом или другой плотной материей;

в) небольшие локальные пожары тушить при помощи углекислотного огнетушителя;

г) при большом задымлении использовать противогаз.

#### **Меры первой помощи при несчастных случаях.**

В лаборатории бывают случаи, требующие неотложной медицинской помощи, – порезы рук стеклом, ожоги горячими предметами, кислотами, щелочами.

Для оказания первой помощи в лаборатории имеется аптечка. В серьезных случаях необходимо пострадавшего сопроводить к врачу.

При мелких порезах стеклом удалите осколки из раны, смойте кровь, продезинфицируйте раствором йода и перевяжите бинтом.

При ожоге рук или лица реактивом смойте реактив большим количеством воды, затем в случае ожога щелочью – раствором борной кислоты, в случае ожога кислотой – раствором гидрокарбоната натрия, а затем опять водой.

Одежду, соприкасавшуюся с реактивами, следует снять.

При ожоге горячей жидкостью или горячим предметом обожженное место промойте проточной холодной водой в течение 5–10 мин. Затем пострадавшего следует немедленно доставить в ближайшее лечебное учреждение.

При попадании химического вещества в глаза их необходимо обильно промыть в течение 10–15 мин струей холодной воды так, чтобы она стекала от носа к виску. Веки пораженного глаза во время промывания должны быть осторожно развернуты. Контактные линзы перед промыванием следует снять. Затем в любом случае пострадавшего незамедлительно доставить в глазную клинику.

При попадании яда внутрь необходимо вызвать рвоту принятием теплого раствора поваренной соли (3–4 чайные ложки на стакан воды) и затем надавить пальцем на заднюю часть зева, давая пострадавшему пить большое количество теплой воды.

Если пострадавший потерял сознание или же отравление вызвано проглатыванием растворителя, кислоты или щелочи, то рвоту вызывать нельзя. Пострадавшего перенести на свежий воздух и оставить в спокойном положении в тепле. Немедленно вызвать бригаду неотложной помощи.

При поражении электрическим током необходимо быстро освободить пострадавшего от действия тока путем отключения электроэнергии общим рубильником. Вынести пострадавшего на свежий воздух и при необходимости сделать ему искусственное дыхание и массаж сердца. Немедленно вызвать скорую помощь.

### **Основные приемы и методы работы в лаборатории.**

*Измельчение* твердых материалов проводится для увеличения поверхности твердой фазы, что приводит к возрастанию скорости реакции, растворения, эффективного экстрагирования.

Измельчение происходит путем дробления, размалывания или растирания. Выбор способа измельчения зависит от механических и химических свойств материала.

Небольшие количества веществ обычно измельчают в фарфоровых ступках. Растирание лучше производить небольшими порциями, заполняя ступку на одну треть объема.

Для измельчения больших количеств веществ служат лабораторные мельницы и гомогенизаторы. Размол проводится лаборантом.

**Перемешивание** осуществляется с помощью мешалок различных форм. Посуда с веществом устанавливается в держатели, при необходимости укупоривается пробками или крышками.

Для перемешивания в открытых сосудах применяют стеклянные палочки. Перемешивание проводят осторожно, придерживая посуду рукой.

**Нагревание** осуществляют с помощью различных нагревательных приборов.

**Водяная баня** применяется в тех случаях, когда достаточен нагрев не выше 90 °С. Используя в качестве теплоносителя растворы солей (хлориды калия и кальция, иодид калия и др.), можно повысить температуру нагрева бани. Увеличение концентрации соли ведет к повышению температуры кипения раствора.

Водяная баня представляет собой металлическую кастрюлю, снабженную водомерной трубкой с воронкой для контроля за уровнем жидкости в бане и доливания ее по мере испарения. Сверху баня закрывается рядом съемных концентрических колец разного диаметра. С их помощью регулируют размер отверстия, в которое помешают нагреваемый сосуд.

Опускаемые в баню колбы не должны касаться ее стенок или дна. Уровень воды в бане не должен быть ниже уровня жидкости в нагреваемом сосуде. Пробирки помещают в баню в специальных круглых штативах.

**Термостаты** предназначены для постоянного поддержания строго определенной температуры. Термостат отличается от сушильного шкафа тем, что поддерживает температуру более точно и в более низком интервале температур (обычно не выше 60 °С).

**Охлаждение** применяют для снижения скорости реакции, инициирования кристаллизации, а также при работе с термолабильными соединениями. Простейший способ состоит в том, что сосуд с охлаждаемым веществом помещают в баню с холодной водой или льдом.

Для быстрого охлаждения небольших сосудов и пробирок их помещают под струю водопроводной воды.

Для достижения температур ниже  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  используют охлаждающие смеси, состоящие из льда и неорганических солей.

**Фильтрация.** Проводится для отделения жидкой фазы от твердой и осуществляется пропусканием жидкости с осадком через фильтрующий материал. Существуют различные фильтрующие материалы и различные способы фильтрации.

Наиболее распространенным фильтрующим материалом в лаборатории является фильтровальная бумага. Из нее изготавливают бумажные фильтры. Размер фильтра определяется массой осадка, а не объемом фильтруемой жидкости. Отфильтрованный осадок должен занимать не более половины объема фильтра.

Обычный способ фильтрации сводится к использованию стеклянной воронки с вложенным в нее бумажным фильтром. Складчатый фильтр имеет большую фильтрующую поверхность, и фильтрация через него идет быстрее. При его изготовлении сложенный простой фильтр складывают гармошкой, которую затем разворачивают.

Воронку с вложенным фильтром вставляют в кольцо, под нее ставят стакан или плоскодонную колбу для сбора отфильтрованной жидкости (фильтрата).

Перед началом работы фильтр смачивают растворителем, который предстоит фильтровать.

Фильтр должен плотно прилегать к внутренней поверхности стеклянной воронки.

Фильтруемую жидкость переносят на фильтр по стеклянной палочке или с помощью специальных пипеток с расширителем.

Во время фильтрации уровень жидкости должен быть немного ниже верхнего края бумажного фильтра.

**Центрифугирование** применяют для отделения аморфных рыхлых осадков. Для этого используют центрифуги. Центрифуга представляет собой прибор, в котором используется принцип центробежных сил. Ротор центрифуги насажен на вертикальный вал электромотора и снабжен гнездами для пробирок, в которые помещают подлежащую центрифугированию взвесь. При быстром вращении ротора происходит оседание взвешенных частиц (седиментация) и их уплотнение в виде осадка на дне центрифужной пробирки.

Независимо от числа гнезд в роторе (а оно всегда бывает четным), работу проводят только с четным числом пробирок.

Перед началом работы пробирки с содержимым уравнивают на центрифужных или технических весах. После грубого уравнивания всех пробирок проводят попарное точное уравнивание. Запрещается центрифугировать неуравновешенные пробирки или нечетное их число.

Взаимно уравновешенные пробирки устанавливают в роторе напротив друг друга.

Центрифужные пробирки нельзя наполнять более чем на две трети объема.

Скорость и время центрифугирования зависят от характера отделяемого осадка и приведены в указаниях по выполнению работы.

После центрифугирования надосадочную жидкость отделяют либо декантацией (слив по направлению осадка) (если осадок плотный), либо с помощью пипетки (если осадок рыхлый).

Для промывания осадка в пробирку наливают промывную жидкость, осадок взмучивают и центрифугирование повторяют.

Под **высушиванием** обычно понимают удаление воды или других растворителей из твердых веществ. Высушивание проводится на открытом воздухе или путем нагревания. В лабораторном практикуме применяют высушивание в сушильном шкафу. На термореле устанавливают заданную температуру (как правило 100–105 °С). После нагрева до заданного предела в сушильный шкаф помещают материал для высушивания.

В качестве тары используют алюминиевые тигли и другие емкости из жаростойких материалов.

Для помещения материалов в шкаф и их извлечения используют специальные щипцы.

**Взвешивание** – определение массы веществ, осуществляется с помощью различных типов весов. Для определения массы веществ и материалов с точностью до 0,01 г используют электронные весы. Для взвешивания с точностью до 0,001 г используют торсионные весы.

## 1. ОБЩАЯ ЧАСТЬ

### Лабораторная работа 1. Изучение роста и развития растений с использованием метода почвенной культуры

Почвенная культура по сравнению с другими модификациями вегетационного опыта ближе всего к естественным условиям и в этом отношении приближается к полевому опыту.

**Построение схемы опытов.** Схемы опытов строятся в соответствии с задачами, которые стоят перед исследователем. Основным принципом построения схем опытов является требование единственного различия между сравниваемыми вариантами. Однако нередко на растения действует комплекс факторов и требуется установить их взаимодействие. В схеме должен быть контрольный вариант или стандарт (для сорта).

**Вегетационные сосуды.** Обычно используют два типа вегетационных сосудов: сосуды без отверстия в дне (Вагнера) и сосуды с отверстием в дне (Митчерлиха) (рис. 1).

Изготавливаются сосуды из железа, стекла, пластмасс, глины. Есть сосуды эмалированные. Размеры и форма сосудов зависит от выращиваемой культуры и цели опыта. Наиболее удобны сосуды высотой 20–25 см и диаметром 15–30 см. Большие используются для картофеля, капусты, подсолнечника, свеклы. Сосуды с отверстием в дне чаще делают размером 20×20 см. Под сосуд устанавливается поддонник (куда стекают излишки воды). На дно сосуда обычно помещают дренаж (битое стекло, гравий и др.) или сетку, трубки для полива.

Точные опыты проводят в сосудах без отверстий. Полив осуществляется по весу (точно поддерживается водный режим). Их предохраняют от попадания дождевой воды. Однако использование таких сосудов требует больших затрат.

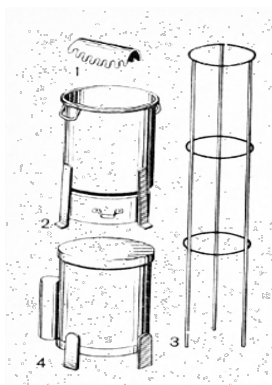


Рис. 1. Вегетационные сосуды: 1 – гребенка оцинкованная; 2 – сосуд Митчерлиха-Кирсанова; 3 – проволочный каркас; 4 – сосуд Вагнера

**Подготовка почвы к закладке опыта.** В зависимости от целей выбирается типичная почвенная разность (чернозем, дерново-подзолистая и др.), окультуренная или целинная. Для культурных почв необходимо иметь сведения за последние 3–5 лет (предшественник, урожайность, вносимые удобрения, обработка).

Почву брать перед их закладкой весной, когда перестает мазаться (зрелая почва). Обычно почва берется из пахотного горизонта (или любого другого если необходимо).

Количество почвы рассчитывается заранее (в зависимости от количества сосудов, веса абсолютно сухой почвы, ее влажности) с излишком (на 20–30 % – потери при транспортировке, подготовке опыта). Почву просеивают через грохот (сито) с отверстиями в 3 мм, комки не выбрасывают, а разминают. Отбрасываются лишь посторонние предметы (галька, крупные органические вещества). Корневые и пожнив-ные остатки желателно размельчить и присоединить к массе почвы. Тщательно перемешать почву – добиться ее полной однородности по всему объему. После перемешивания почву помещают в плотные лари или ящики и накрывают крышками или картоном.

Отбирают пробы почвы для определения влажности (1) и влагоемкости (2) (за 1–2 дня до набивки сосудов), а также химического и механического анализов. На влажность берут две пробы по 5–10 г, для других анализов – 1 кг:

$$\text{Влажность почвы } (h) = \frac{\text{вес воды в навеске}}{\text{вес абсолютно сухой почвы}} \cdot 100 (\%); \quad (1)$$

$$\text{Влагоемкость почвы } (W) = \frac{\text{вес воды при полном насыщении почвы}}{\text{вес абсолютно сухой почвы}} \cdot 100 (\%). \quad (2)$$

**Выбор и подготовка сосудов.** Для зерновых используют сосуды 20×20 см (на 5–7 кг почвы), для сахарной свеклы, картофеля – на 15–30 кг и более.

**Расчет доз удобрений.** Основными макроэлементами для растений являются N, P, K. Целесообразно применять чистые соли. Они содержат меньшее количество балластных ионов (суперфосфат, кроме P, содержит много Ca и S). Желательно использовать физиологически нейтральные соли. Удобно пользоваться растворами чистых солей (хорошо растворимы N и K, после растворения необходимо профильтровать), содержащими в 100 мл (или 50) 1 г питательного вещества. Суперфосфат нельзя вносить в растворе, так как CaCO<sub>3</sub> не растворим. Нерастворимые удобрения подсушивают, измельчают и просеивают

через сито с отверстием 0,5–1 мм. Навески помещают в пакетики и подписывают их. При использовании промышленных удобрений последние вносятся в дозах, рассчитанных на содержание действующего вещества (д. в.). Дозы удобрений рассчитывают различными методами. Для культур, чувствительных к концентрации почвенного раствора, применяют дозы N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O по 0,1 г (д. в.) на 1 кг почвы (табл. 1).

Таблица 1. Рекомендуемые дозы удобрений (г/кг почвы)

Культура	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
Зерновые	0,15	0,1	0,1
Бобовые	0,1...0,15	0,15...0,2	0,2...0,25
Картофель	0,12	0,2	0,28
Свекла сахарная	0,15	0,22	0,22
Лен	0,05	0,1...0,12	0,06...0,1

Для культур более выносливых можно вносить по 0,2 г/кг почвы, особенно если почва богата илистыми частицами или органическим веществом. Для большинства культур доза по 0,3 г/кг почвы является вредной. Для зерновых рекомендуется вносить 0,75 г N, 0,5 г P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> и 0,5 г K<sub>2</sub>O на сосуд.

Содержание в удобрениях действующих веществ: аммофос – 12 % N и 60 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> – 35 % N; суперфосфат двойной – 45 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; хлористый калий – 60 % K<sub>2</sub>O.

Дозы микроудобрений зависят от особенностей культуры и почвы, способа внесения (с семенами или в некорневую подкормку).

**Закладка опыта** ведется по заранее заготовленной схеме.

Каждый сосуд этикируется. На этикетке указываются следующие сведения:

Факультет, курс, группа, Ф.И.О. студента .....

Дата закладки опыта .....

Тема опыта .....

Почва .....

Вес тары с дренажом .....

Вес сосуда с почвой .....

Культура .....

**Техника набивки сосудов.** Когда подготовлена почва, а сосуды вымыты и покрашены, пронумерованы, снабжены дренажом, трубкой для полива, тарированы до одного веса, приготовлены растворы или взяты навески удобрений, приступают к набивке сосудов.

На дренаж укладывают кружок марли (на 4–5 см больше диаметра сосуда), у края делаются отверстия для установки трубки (сосуд Вагнера). Поверх марли рекомендуется уложить слой песка 1,5–2 см (влажность до 60 % полной влагоемкости). Делают пробную набивку и определяют вес почвы в сосуде (желательно целое число). Уровень почвы должен быть на 2–2,5 см ниже верхнего края сосуда. Навеску почвы помещают в большой таз, добавляют навески сухих удобрений и тщательно перемешивают с почвой (известь перемешивают отдельно от удобрений), отмеривают растворы удобрений, разбавляют водой до одинакового для всех сосудов объема, размешивают и равномерно разливают по поверхности почвы. Затем почву тщательно перемешивают до полной равномерности ее увлажнения. Оптимальная влажность для набивки 40–50 % полной влагоемкости. Сухую почву можно увлажнять дистиллированной водой. Если полная влагоемкость равна 40 %, то влажность надо доводить до 16–20 %.

Почву совком или руками постепенно переносят в сосуд, все время ее уплотняя. Надо уплотнять почву равномерно по всему объему. Тщательно уплотняют у стенок и трубок. Набивать сосуды должен один человек. Начинать с сосудов без удобрений.

После набивки сосудов почвой их засыпают сверху взвешенным количеством песка (слой 1 см – 200 г песка).

**Полив растений в сосудах.** Оптимальной влажностью принято считать влажность, соответствующую 60 % полной влагоемкости. Для ряда почв (тяжелосуглинистые, богатые органическими веществами, а также легкие песчаные) и культур влажность составляет 70–80 % ПВ.

**Поливной вес сосудов** (сосуды Вагнера поливают по весу) складывается из веса тары (с дренажом и трубкой), абсолютно сухой почвы, воды, песка, чехла (на стеклянном сосуде), каркаса.

Расчет: влажность 50 % от абсолютно сухой почвы;

оптимальная влажность:  $50 \cdot 60 / 100 = 30 \%$ ;

расчетная влажность:  $5 \cdot 30 / 100 = 1,5 \text{ кг H}_2\text{O}$ .

Вес песка (включая дренаж) 200 г (влажность 25 %)  $60 \cdot 25 / 100 = 15 \%$  на 200 г – 30 г.

Вычисленную величину поливного веса округляют до целых значений и увеличивают, чтобы влажность колебалась в ту и другую сторону от принятой в опыте ( $60 \pm 5 \%$ ).

Поливают дистиллированной (на малобуферных почвах) или водопроводной водой. Поливают один раз в сутки – в утренние или вечерние часы. В сухие жаркие дни – дважды – утром и вечером (раз по ве-

су, раз по объему). Поливают сверху и снизу (через трубку): 2–3 раза снизу, 1 раз сверху. Когда развивается вегетативная масса, поливной вес увеличивают с учетом этой массы. Во время созревания поливают меньшим количеством и реже.

**Посев.** Берутся семена с высокой всхожестью, распространенных, новых или перспективных сортов высоких репродукций. В сосудах на 5 кг почвы принято выращивать 12–15 растений зерновых. Посев проводят сухими, набухшими или проросшими семенами (длина корешков не более 0,2–0,4 см). На проращивание ставят больше чем надо, чтобы отобрать с одинаковыми корешками.

Высаживают (высевают) 20–25 семян (кукурузы – 6). Глубина заделки 1,5–2 см (кукурузы – 5–6 см). Посев следующими способами:

а) на картонном круге (на 5 см) сверлом вырезают отверстия диаметром 0,5 см, равномерно распределяя их по поверхности кружка. Кружок кладут на почву, затем палочкой 4 мм делают углубления до метки на палочке. В ямки раскладывают семена и заделывают песком.

б) ямки делают при помощи сажального деревянного кружка с деревянными или металлическими шильцами диаметром 0,4 см и длиной – 1,5–2 см. Доведенные до поливного веса и засеянные сосуды покрывают до появления всходов толстой бумагой или картоном для сохранения влажности почвы.

В фазе кущения проводят прореживание одновременно во всех сосудах, оставляя наиболее выровненные, удаляются отстающие в росте и более сильные (учитывая равномерность), выдерживают с семенами и корнями.

**Уход за растениями.** Сосуды расставляют на вагонетки или стеллажи с промежутками 4–5 см (или более). В течение вегетации необходимо как можно чаще переставлять сосуды на вагонетках (стеллажах) с одного места на другое. Вагонетки выкатывают и оставляют с раннего утра до вечера и даже на ночь (если не ожидается дождя и ветра).

**Наблюдения.** Опыт проводят в течение 2–3 месяцев в зависимости от культуры.

На протяжении всего опыта ведут наблюдения за ростом и развитием растений, данные записывают в табл. 2. Указывают фазу развития, высоту растения, число листьев, площадь листьев, кустистость и прочие наблюдения (см. работы 3, 4).

**Уборка** растений проводится при полном созревании (одновременно или по мере созревания).

**Т а б л и ц а 2. Наблюдения за ростом и развитием растений  
в варианте опыта \_\_\_\_\_**

Показатели	Дата				
1. Фаза развития					
2. Высота растений, см					
3. Число стеблей, шт.					
4. Толщина стебля, см					
5. Количество листьев, шт.					
6. Максимальный размер листьев (длина и ширина), см					
7. Характерные признаки растений (окраска листьев и стеблей, проявление хлороза и некроза, деформация и др.)					

Растения срезают у почвы, определяют элементы структуры урожайности и содержание сухого вещества в надземной массе (см. работу 5, 6).

Для определения параметров корневой системы её отмывают от почвы и определяют удельную и рабочую поверхность, а также содержание сухих веществ (см. работу 2).

После определения адсорбирующей поверхности корни промывают водой, обсушивают фильтровальной бумагой и помещают в сушильный шкаф для высушивания. Высушенную надземную часть и корни взвешивают, результаты заносят в табл. 3.

**Т а б л и ц а 3. Результаты изучения роста и развития  
различных сельскохозяйственных растений**

Наименование растения	Кустистость		Длина, см		Масса надземной части, г		Масса корней, г		Объем корневой системы, мл	Адсорбирующая поверхность корней, м <sup>2</sup>		
	общая	продуктивная	надземной части	корней	сырая	сухая	сырая	сухая		общая	рабочая	недействительная

Полученные данные анализируют и делают выводы о динамике роста и развития различных сельскохозяйственных растений.

## **Лабораторная работа 2. Определение общей и рабочей адсорбирующей поверхности корней методом Сабинина и Колосова**

Поглотительная способность корневой системы зависит от ее длины, физиологической активности и соотношения деятельной и недейтельной поверхности. К деятельной или рабочей адсорбирующей поверхности относят молодые корни и корневые волоски, интенсивно поглощающие элементы минерального питания и воду. К недейтельной поверхности относят старые корни, лишенные корневых волосков и покрытые пробкой, они не участвуют или слабо участвуют в процессах поглощения минеральных элементов и воды.

У более продуктивных растений формируется большая общая поверхность корней и, что особенно важно, имеющая большую поглощающую поверхность. Путем сравнения величины адсорбирующей поверхности корней у различных сортов и гибридов можно выделить из них перспективные формы для конкретных условий произрастания.

Метод Д. А. Сабинина и И. И. Колосова основан на представлении об адсорбционном характере начального этапа поглощения веществ корнями. В качестве адсорбируемого вещества используется раствор метиленового синего, поглощение которого можно определить по изменению концентрации опытного раствора. Если допустить, что ионы и молекулы при адсорбционном насыщении поверхности корней располагаются в один слой, то можно определить площадь, на которой они адсорбируются.

Установлено, что при двукратном 1,5-минутном погружении корневой системы в раствор метиленового синего происходит адсорбционное насыщение как деятельной, так и недейтельной поверхности корней, а при третьем погружении метиленовая синь поглощается только деятельной поверхностью, которая за этот промежуток времени десорбировала поглощенную ранее краску внутрь корня.

Известно, что 1 мг раствора метиленового синего покрывает 1,1 м<sup>2</sup> поверхности адсорбента. Поэтому, зная количество поглощенной метиленовой сини корнями, можно определить их поглощающую поверхность.

**Ход работы.** Вначале определяют объем корневой системы, для этого в мерный цилиндр наливают воду до определенного деления, погружают в нее корни, предварительно обсушенные фильтровальной бумагой, и учитывают объем вытесненной воды.

Для определения адсорбирующей поверхности корней в три пронумерованных стакана наливают 0,0002 н. раствор метиленовой сини в количестве, превышающем объем корневой системы в 10 раз. Корни последовательно погружают на 1,5 мин в каждый стакан. При этом растворы в стаканах перемешивают путем их кругового вращения. После каждого погружения дают возможность синьке стечь с корней в тот же стакан, в котором они находились.

Окрашенные корни после извлечения их из третьего стакана промывают водой и помещают в стакан с раствором хлорида кальция, где наблюдают выделение метиленовой синей из корней, что указывает на наличие обменной адсорбции.

Затем опытные растворы из трех стаканов разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:9 (1 часть раствора + 9 частей воды) в малых стаканах на 100 мл. После этого определяют их оптическую плотность на фотоэлектроколориметре (ФЭК). При работе на ФЭКе используют желтый светофильтр. Без разбавления растворы нельзя колориметрировать, так как их оптическая плотность очень высокая.

Концентрацию метиленового синего в опытных стаканах можно определить двумя способами – путем расчета и, пользуясь калибровочной кривой. При использовании первого способа одновременно с опытными растворами колориметрируют исходный раствор, также предварительно разбавленный водой в десять раз (4-й). Концентрацию метиленовой сини в первом, втором и третьем опытных стаканах рассчитывают по формуле (3):

$$C = \frac{E \cdot C_k}{E_k}, \quad (3)$$

где  $C$  – концентрация метиленовой сини в опытных растворах, мг/мл;

$C_k$  – концентрация метиленовой сини в исходном растворе (0,064 мг/мл);

$E_k$  – оптическая плотность исходного раствора метиленовой сини;

$E$  – оптическая плотность метиленового синего в опытных растворах.

Результаты определения оптической плотности и концентрации растворов записывают в табл. 4. Концентрацию растворов в стаканах можно определить другим способом. Для этого определяют оптическую плотность у растворов метиленового синего известной концентрации и по полученным данным строят график. Зная оптическую плотность растворов, по графику находят их концентрации, и полученный результат умножают на 10 (с учетом 10-кратного разбавления).

**Таблица 4. Результаты определения концентрации метиленовой сини**

Анализируемое растение (вариант)	Объем корневой системы, мл	Показание оптической плотности метиленовой сини в стаканах				Концентрация метиленовой сини в стаканах, мг		
		1-й	2-й	3-й	4-й			
		$E_1$	$E_2$	$E_3$	$E_k$	$C_1$	$C_2$	$C_3$

Адсорбирующую поверхность корневой системы рассчитывают, пользуясь формулами, приведенными в табл. 5.

**Таблица 5. Расчет адсорбирующей поверхности корневой системы**

Вариант	Объем раствора метиленовой сини в стакане, мг	Начальное содержание метиленовой синей в стакане, мг	Осталось краски в растворе после погружения корней в стаканах, мг			Поглощено корнями краски из растворов в стаканах, мг			Адсорбирующая поверхность корней, м <sup>2</sup>			Удельная поверхность, м <sup>2</sup> /мл		
			В первом	Во втором	В третьем	Из первого	Из второго	Из первого и второго вместе	Из третьего	Общая	Рабочая	Недействительная	Общая	Рабочая
	$V$	$A = V \cdot C_k$	$A_1 = V \cdot C_1$	$A_2 = V \cdot C_2$	$A_3 = V \cdot C_3$	$B_1 = A - A_1$	$B_2 = A - A_2$	$B_3 = B_1 + B_2$	$C = A - A_3$	$D = B_3 \cdot 1,1$	$D_1 = C \cdot 1,1$	$D_2 = D - D_1$	$D / V \cdot 10$	$D_1 / V \cdot 10$

Исходное содержание метиленового синего в растворе определяют путем умножения концентрации исходного раствора ( $C_k$ ) на объем раствора в стакане ( $V$ ). Количество оставшегося в стаканах метиленового синего после 1,5-минутного погружения корней определяют путем умножения концентраций этих растворов ( $C_1, C_2, C_3$ ) на их объем ( $V$ ). Количество поглощенного метиленового синего из каждого стакана определяют как разницу между исходным содержанием и количеством оставшейся краски после погружения корней. Умножая 1,1 м<sup>2</sup> на число миллиграммов метиленовой сини, поглощенной из первого и

второго стаканов ( $B_3$ ), получают величину общей адсорбирующей поверхности корней. Умножением  $1,1 \text{ м}^2$  на количество миллиграммов краски, поглощенной из третьего стакана ( $C$ ), находят величину рабочей адсорбирующей поверхности. Разница между величинами общей и рабочей адсорбирующей поверхности дает представление о величине недействительной поверхности корней. Удельную адсорбирующую поверхность корней находят путем деления величин общей и рабочей поверхности на объем корней.

### **Лабораторная работа 3. Проведение фенологических наблюдений**

Фенологические наблюдения заключаются в датировании наступления отдельных фаз развития и осуществляются с целью сравнить ход развития растений в различных условиях опыта.

При проведении фенологических наблюдений отмечается начало фазы – вступление в нее 10–15 % растений и полная, когда не менее 75 % растений приобретают черты, свойственные данной фазе.

Все фенологические наблюдения заносят в табл. 6 с указанием даты наступления фаз.

Таблица 6. Результаты фенологических наблюдений

Вариант	Наименование фенологической фазы / дата наступления фазы								

У **злаковых культур** фиксируют наступление следующих фаз развития (рис. 2).

1. Всходы: а) начало появления всходов; б) полные всходы.

2. Развитие третьего листа: а) отмечается начало фазы, когда у отдельных растений из пазухи второго листа появляется верхушка третьего; б) полное наступление фазы, когда она обозначится на большей части растений.

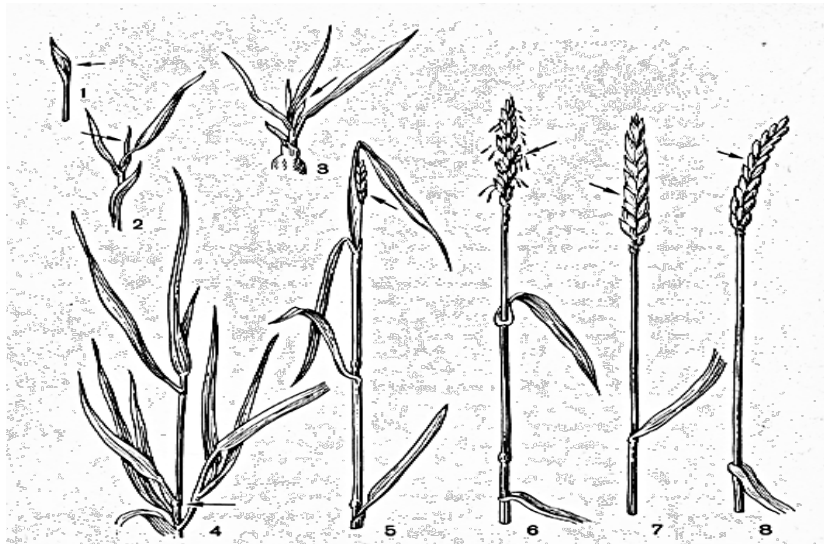


Рис. 2. Фазы развития злаковых культур: 1 – всходы; 2 – третий лист; 3 – кущение; 4 – выход в трубку; 5 – колошение (выметывание); 6 – цветение; 7 – молочная спелость; 8 – восковая спелость

3. Кущение: а) начало – появление боковых побегов у отдельных растений; б) полное – когда кущение появляется у большинства растений.

4. Выход в трубку: появление первичного узла на главном побеге, прощупываемого пальцами.

5. Колошение: выход колоса из влагалища верхнего листа у большинства растений.

6. Цветение: а) начало – когда у отдельных растений раскрываются цветки и появляются пыльники; б) полное – более, чем у 50 %.

7. Молочная спелость: у зерен средней части колоса, достигших нормального размера, при выдавливании вытекает густая белая молочная жидкость.

8. Желтая, или восковая, спелость: зерно в средней части колоса желтого цвета, мнется, легко разрезается ногтем.

9. Полная спелость: зерно твердое, начинает высыпаться и разламываться.

У **зернобобовых** (фасоль, люпин, горох) наблюдают следующие фазы развития (рис. 3): всходы, второй настоящий лист, бутонизация, цветение (начало и полное), образование плодов, созревание семян.

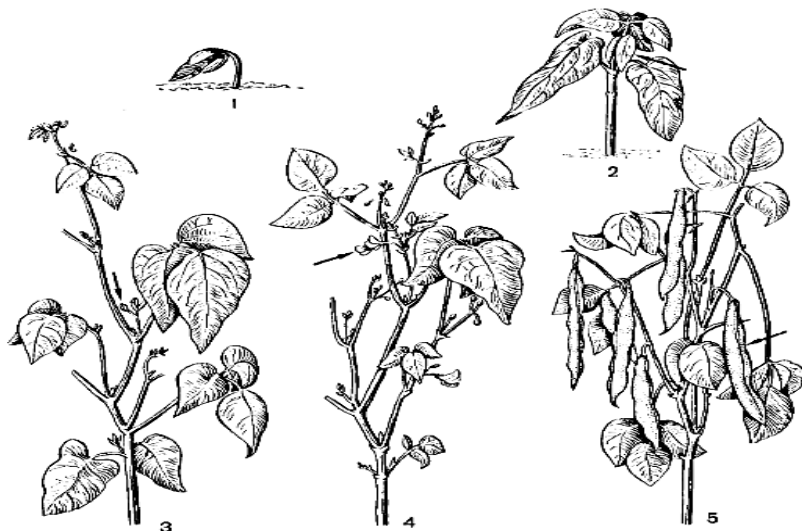


Рис. 3. Фазы развития зернобобовых культур: 1 – всходы; 2 – второй настоящий лист; 3 – бутонизация; 4 – цветение; 5 – созревание

У двудольных, например у **льна**, отмечают следующие фазы развития (рис. 4): всходы, «елочка», интенсивный рост – бутонизация, цветение и созревание.

1. Всходы (фаза семядольных листочков): развиты только семядольные листочки и маленькая почечка между ними, из которой развивается стебель.

2. Образование настоящих листьев: формируется розетка настоящих листьев.

3. «Елочка»: растение достигает высоты 3–10 см и имеет 5–6 пар настоящих листочков. После фазы «елочки» у растений льна наступает период быстрого роста, который продолжается и в фазу бутонизации.

4. Интенсивный рост – бутонизация: прирост растений льна в высоту достигает 3–5 см в сутки, в стеблях формируются волокно и репродуктивные органы.

5. Цветение: замедляется рост стеблевой части и корневой системы растения, развивается соцветие.

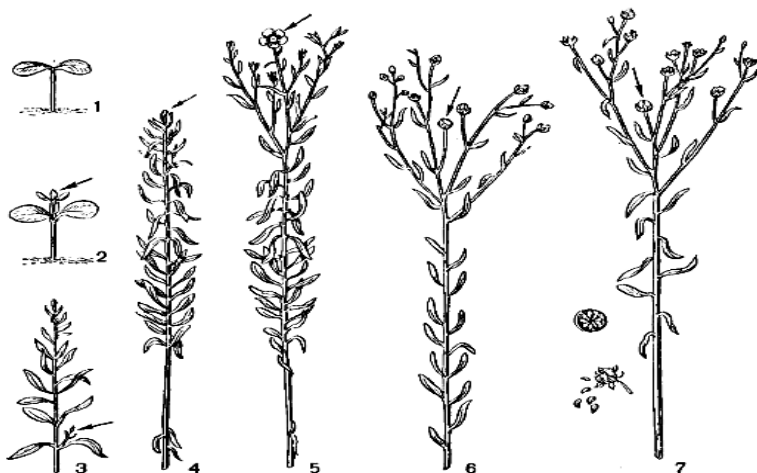


Рис. 4. Фазы развития льна: 1 – всходы; 2 – образование настоящих листьев; 3 – «елочка»; 4 – интенсивный рост – бутонизация; 5 – цветение; 6 – созревание

6. Созревание: характеризуется быстрым одревеснением стебля и формированием семян. В этой фазе различают зеленую, раннюю желтую, желтую и полную спелости льна. Между фазами резких границ нет, происходит постепенный переход. Фазу спелости льна в производственных условиях следует определять по длине стебля, освободившегося от листьев, по цвету семенных коробочек и семян.

В фазу *зеленой спелости* стебель на 1/4 длины освобожден от листьев, на растениях 80–85 % завязавшихся коробочек и остается лишь 15–20 % цветков. Семена имеют низкую жизнеспособность.

В фазу *ранней желтой спелости* на 2/3 длины стебля листья осыпаются, лишь самые верхние остаются еще зелеными. В желто-зеленых коробочках находятся бледно-зеленые семена с желтым носиком.

В развитии растения **картофеля** различают 8 основных фенологических фаз (рис. 5): прорастание, всходы, стебление, бутонизация, цветение, клубнеобразование, отмирание ботвы, покой клубней.

1. Проращение: повышается интенсивность дыхания клубней, происходит превращение крахмала в сахар, последний передвигается по сосудистым пучкам к глазкам. Почки в глазках набухают и прорастают. В верхней части ростка образуются небольшие чешуйчатые бугорки, из которых сначала развиваются молодые корни, а после укоренения – стебелек. В период от посадки до появления всходов материнский клубень является источником питательных веществ, обеспечивающим ростовые процессы корней, стеблей и листьев. Проращение начинается с верхних глазков, причем в рост трогается обычно одна почка глазка. Обламывание ростков проросших клубней отрицательно сказывается на росте и развитии картофеля и приводит к ослаблению ростового процесса клубня.

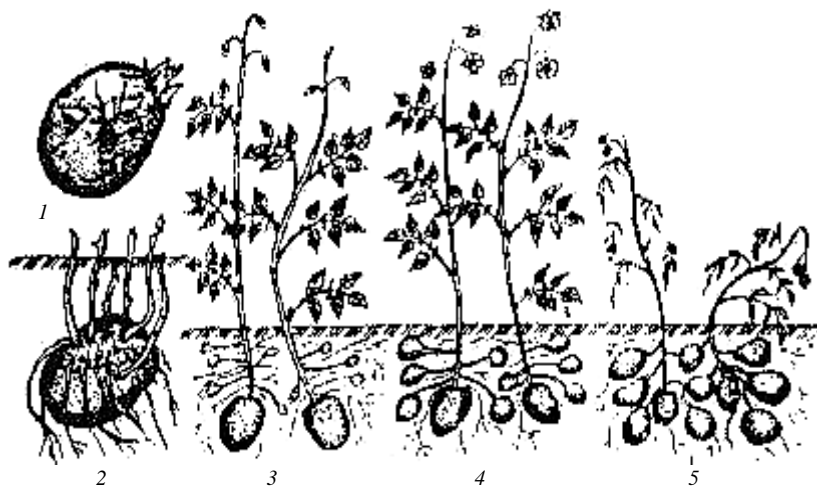


Рис. 5. Фазы развития растений картофеля: 1 – проращение клубня; 2 – всходы; 3 – бутонизация; 4 – цветение; 5 – отмирание ботвы

2. Всходы: появление проростка на поверхности почвы.

3. Стеблевание: период от появления первых зеленых листьев, обычно сросшенных, до развития стеблей с нормальными листьями. Период характеризуется активным формированием стеблей, листьев и корневой системы. Процессы проходят параллельно и включают: рост главного и боковых (базальных) побегов: активное формирование листьев; постепенное смыкание стеблестоя – в итоге до 90 % площади

соседних растений соприкасаются между собой; начало образования клубней – столоны набухают и увеличиваются до размеров, в два раза больше их первоначального диаметра. Материнский клубень теряет свою значимость. Хорошо сформированная корневая система особенно важна на этом этапе и для дальнейшего роста, так как помогает растению быстро восстановиться после весенних заморозков, града или повреждения насекомыми.

4. Бутонизация: появление бутонов на растении. В это время наиболее интенсивно формируются столоны, и на их концах появляются утолщения.

5. Цветение: на растении распускаются цветки. В период цветения картофеля закладывается основа для будущего урожая. На этом этапе формируется две трети клубневой массы картофеля. Молодые клубни вначале очень водянисты, но через некоторое время они разрастаются и в них начинает откладываться крахмал, интенсивный рост ботвы продолжается. Растения требуют все большего количества влаги и питательных веществ

6. Клубнеобразование начинается только после того, как стебли и листья полностью сформированы. Появляется 20–30 мелких картофелин, зрелости достигает примерно половина из них. После окончания цветения и образования ягод прирост надземной массы приостанавливается.

Стадии клубнеобразования:

- а) рост от 30 до 70 % от максимальной массы;
- б) 100 % сортового веса, кожура не сформирована;
- в) появление тонкой шкурки, легкое отделение от столона;
- г) кожура уплотняется, на концах клубня не стирается пальцем.

В это время происходят наиболее интенсивные приросты клубней, накапливается до 75 % конечного урожая. Погодные условия, складывающиеся в этот период, определяют уровень урожайности.

7. Отмирание ботвы продолжается с момента отмирания ботвы до ее полного высыхания и физиологического созревания клубней, нижние, а затем средние и верхние листья желтеют, высыхает весь стебель. К началу высыхания стебля останавливается прирост клубней, идет их физиологическое созревание, накопление крахмала. Кожица клубней из тонкой и легкосдирающейся становится более плотной.

8. Покой клубней. Клубни имеют важное биологическое свойство – период покоя, что позволяет сохранять посадочный материал без снижения продуктивной способности. Период покоя представляет собой такое физиологическое состояние клубней, при котором меристематические ткани прекращают рост, дыхание ослабевает и резко

снижается обмен веществ. Продолжительность периода покоя – сорто-специфический признак. Как правило, у позднеспелых сортов он продолжительнее, чем у ранних, однако во всех группах скороспелости есть «быстрые» и «замедленные» сорта.

#### **Лабораторная работа 4. Проведение морфометрических наблюдений**

Морфометрические наблюдения проводят для оценки динамики роста растений в различных условиях опыта, оценивается прирост вегетативной массы.

**Ход работы.** Для осуществления морфометрических наблюдений на делянке отбирают 10–20 средних растений в различных местах учетной площади, подкапывая их копачами.

Наблюдение за ростом растений состоит в измерении высоты стебля от основания до верхушечной почки (у злаков – от основания до конца последнего сформированного листа или колоска). Измерения производятся систематически от всходов до конца вегетационного периода по фазам развития или через равные промежутки времени. Разница в высоте стебля между двумя сроками измерения указывает на прирост стебля в высоту.

Одновременно с измерением высоты определяют количество побегов кушения (ветвления), колосьев (плодов, коробочек и др.), а также количество листьев и их площадь. Количество листьев подсчитывается на каждом растении отдельно (включая главный побег и побеги кушения), а затем выводится среднее по выборке.

Полученные результаты по вариантам опыта заносят в таблицу наблюдений (табл. 7) и на их основании вычерчивают кривые роста.

Таблица 7. Результаты морфометрических наблюдений

Ва-ри-ант	Да-та	№ рас-тения	Высота стебля, см	Количество побегов кушения, шт.	Количество листьев на растении, шт.	Площадь листьев на растении, м <sup>2</sup>	Количество колосьев (плодов), шт.

Площадь листьев на растении определяется путем сравнительного анализа. Для этого все листья с растения взвешивают (с точностью до 0,01 г). Затем из общей массы отбирают 10–20 листьев путем случайной выборки, их снова взвешивают. Данные заносят в табл. 8.

Таблица 8. **Определение площади листьев**

Показатели	Повторности				Среднее
	1	2	3	4	
Масса листьев с растения, г					
Масса ___ листьев, взятых для определения площади, г					X
Площадь ___ листьев, м <sup>2</sup>					X
Масса 1 м <sup>2</sup> листьев, г					
Площадь всех живых листьев с растения, м <sup>2</sup>					

У отобранных 10–20 листьев определяют площадь листьев одним из описанных ниже способов. Выбор способа измерения определяется особенностями строения листьев у различных видов растений.

Затем рассчитывают массу 1 м<sup>2</sup> листьев (табл. 7). Для этого вес измеренных 10...20 листьев делят на их площадь, выраженную в м<sup>2</sup>.

Рассчитывают площадь всех живых листьев на растении. Для этого массу всех листьев делят на массу 1 м<sup>2</sup> листьев. Данные заносят в таблицу.

*Способы определения площади листьев.*

*1-й способ.* Для сложных листьев используют весовой метод с анализом высечек. Для этого листья, отобранные для определения площади после взвешивания, складывают стопкой и пробочным сверлом набивают из них 40–60 высечек. Взвешивают высечки на торсионных весах. Рассчитывают их площадь, измеряя диаметр сверла по формуле (4):

$$S = \pi r^2 \cdot n, \quad (4)$$

где  $S$  – площадь высечек, см<sup>2</sup>;

$r$  – радиус пробочного сверла, см;

$n$  – количество высечек, шт.;

1–2 – полюсный рычаг; 3 – обводный шпиль; 4 – колесико.

Зная массу высечек известной площади и массу отобранных для анализа листьев, находят их площадь по формуле (5):

$$S_1 = \frac{m_1 \cdot S}{m}, \quad (5)$$

где  $S_1$  – площадь листьев, см<sup>2</sup>;

$m_1$  – масса листьев, г;

$S$  – площадь высечек, см<sup>2</sup>;

$m$  – масса высечек, г.

*2-й способ.* Берут простую писчую бумагу, лучше в клеточку, вырезают квадрат площадью  $100 \text{ см}^2$  и взвешивают его на торсионных весах. Затем срезают лист с растения, кладут на идентичный лист бумаги и аккуратно обрисовывают его контур. Затем вырезают контур листа и взвешивают. Зная массу известной ( $S = 100 \text{ см}^2$ ) бумажной площади ( $m$ ) и массу неизвестной площади ( $m_1$ ), находят площадь листьев  $S_1$  по формуле (5).

*3-й способ.* Срезанный с растения лист кладут на миллиметровую бумагу, обводят на ней контур листа карандашом. Считают количество квадратных миллиметров, пришедшихся на площадь листа. По краю листа за целый миллиметр принимают больше  $\frac{1}{2} \text{ мм}^2$ , меньше  $\frac{1}{2} \text{ мм}^2$  в расчет не принимается.

*4-й способ* (для листьев злаков). Этот способ используется для определения площади линейных листьев, основан на измерении длины и ширины листа (в наиболее широкой центральной части). Результаты измерений заносят в табл. 9.

Таблица 9. Определение размеров листьев злаковых культур

Показатель	№ листа										ср	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Длина листа, см												
Ширина листа, см												

Рассчитывают площадь измеренных листьев по средней длине и средней ширине по формуле (6):

$$S = L_{\text{ср}} \cdot H_{\text{ср}} \cdot 0,7, \quad (6)$$

где  $S$  – площадь 10 листьев,  $\text{см}^2$ ;

$L_{\text{ср}}$  – средняя длина измеренных листьев, см;

$H_{\text{ср}}$  – средняя ширина измеренных листьев, см;

0,7 – коэффициент для расчета площади листьев злаков.

### **Лабораторная работа 5. Определение биологической и хозяйственной урожайности сельскохозяйственных растений**

Урожайность – интегральный показатель, зависящий от темпов роста и развития растений, устойчивости к болезням и неблагоприятным условиям среды, конкурентных отношений в посевах между культурными и сорными растениями, других факторов.

Урожайность – это количество продукции, собираемое с единицы площади посева. Обычно ее выражаем в центнерах или тоннах продукции с одного гектара (ц/га или т/га).

Различают урожайность биологическую ( $Y_{\text{биол}}$ ) и хозяйственную ( $Y_{\text{хоз}}$ ). Биологическая урожайность включает всю сухую биомассу растений (корни, стебли, листья, колосья, зерно, солома). Хозяйственная урожайность оценивается количеством продукции, которая используется в пищу, на корм, переработку (зерно, клубни, корнеплоды, плоды и т. д.).

Для определения доли хозяйственной части урожая в общей биологической урожайности используется показатель, который называют коэффициентом хозяйственного использования ( $K_{\text{хоз}}$ ). Его рассчитывают как соотношение хозяйственной урожайности к биологической, выраженное в процентах по формуле (7):

$$K_{\text{хоз}} = Y_{\text{биол}} / Y_{\text{хоз}} \cdot 100 \% . \quad (7)$$

**Ход работы.** Как биологический, так и хозяйственно используемый урожай определяется совокупностью элементов, которые обычно называют элементами (показателями) структуры урожайности.

У зерновых культур такими показателями являются число растений на единицу площади посева (шт/м<sup>2</sup>), кустистость растений (как общая так и продуктивная), длина колоса, количество колосков и зерен в главном колосе, общее число зерен, масса 1000 зерен.

Данные анализа заносят в табл. 10.

Таблица 10. Учет элементов структуры урожайности

Вариант опыта	Масса всего растения, г	Кустистость		Главный побег					С растения			Масса 1000 зерен, г	Урожайность, г/м <sup>2</sup>	
		общая	продуктивная	Высота стебля, см	Длина колос, см	Количество колосков, шт.	Число зерен, шт.	Масса зерна, г	Число зерен, шт.	Масса зерна, г				

Делают выводы об урожайности вида или сорта растения и определяют ключевые элементы продуктивности.

## Лабораторная работа 6. Определение динамики накопления биомассы растений

Накопление биомассы растением в течение вегетации определяет итоговую урожайность культуры, так как при созревании семян и плодов происходит отток ассимилятов от вегетативных органов к генеративным. Таким образом, наблюдение за динамикой накопления сухого вещества в растениях в процессе вегетации является одним из наиболее простых и информативных методов прогнозирования урожайности и широко используется в научных исследованиях.

**Ход работы.** Определение динамики накопления биомассы осуществляют одновременно с проведением морфометрических наблюдений (см. работу 4). Анализ проводят, как правило, по фазам развития.

При оценке в условиях агрофитоценоза на делянке отбирают 10–20 средних растений в различных местах учетной площади, подкапывая их копачами.

Разбирают растения на части: корни, стебли, листья, генеративные органы, сухие листья и побеги. Взвешивают каждую группу сырья, данные заносят в табл. 10.

*Определение содержания сухого вещества.* В каждой группе берут произвольные навески для определения содержания сухого вещества. Растительный материал измельчают с помощью ножниц, ножа или ланцета.

Пробы каждого объекта взвешивают (данные заносят в табл. 10) и помещают в предварительно высушенные до постоянной массы бюксы, заполняя их до половины, рыхло. Бюксы ставят в нагретый до 105 °С сушильный шкаф.

Растительный материал высушивают до постоянной массы, проверяя её путем повторных взвешиваний через 20...30 мин.

Первое взвешивание рекомендуется проводить не ранее 1 часа сушки.

Горячие бюксы вынимают из сушильного шкафа с помощью специальных щипцов и помещают для охлаждения в эксикатор.

После охлаждения бюксы вынимают из эксикатора, растительные пробы взвешивают на аналитических весах.

Влажность материала (%) рассчитывают по формуле (8):

$$W = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100, \quad (8)$$

где  $m - m_3$  – содержание воды в сырой навеске, г;

$m_2 - m_1$  – сырая навеска, г.

Содержание сухого вещества рассчитывают по формуле (9):

$$S = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \cdot 100 \%, \quad (9)$$

где  $m_3 - m_1$  – сухая навеска, г;

$m_2 - m_1$  – сырая навеска, г.

Содержание сухого вещества (%) можно определить другим способом, по формуле (10):

$$S = 100 \% - W \%. \quad (10)$$

Результаты расчетов записывают в сводную табл. 11.

Таблица 11. Результаты учета сырой и сухой биомассы растений

Съем № ____, дата ____, количество растений в пробе __						
Показатели		Повторности				Среднее
		1	2	3	4	
Сырая биомасса, г	корни					
	листья живые					
	стебли					
	репродуктивные органы сухие части					
Навески сырой биомассы на сухое вещество, г	корни					X
	листья живые					X
	стебли					X
	репродуктивные органы сухие части					
Вес биомассы после высушивания, г	корни					X
	листья живые					X
	стебли					X
	репродуктивные органы сухие части					
Процент сухого вещества	корни					
	листья живые					
	стебли					
	репродуктивные органы сухие части					
Сухая биомасса ____ растений, г <small>число</small>	корни					X
	листья живые					X
	стебли					X
	репродуктивные органы сухие части					
Общая сухая биомасса ____ растений, г <small>число</small>						

Динамика накопления сырой и сухой биомассы определяется путем сравнительного анализа смежных измерений, полученные данные заносят в табл. 12.

Таблица 12. **Определение динамики накопления биомассы**

Показатели		Фаза развития					За вегетацию
Количество дней в учетном периоде							
Сырая биомасса растения, г	корни						
	листья живые						
	стебли						
	репродуктивные органы сухие части						
Общая сырая биомасса растения, г							
Прирост сырой биомассы, г	корни						
	листья живые						
	стебли						
	репродуктивные органы сухие части						
Прирост общей сырой биомассы, г							
Сухая биомасса растения, г	корни						
	листья живые						
	стебли						
	репродуктивные органы сухие части						
Общая сухая биомасса растения, г							
Прирост сухой биомассы, г	корни						
	листья живые						
	стебли						
	репродуктивные органы сухие части						
Прирост общей сухой биомассы, г							

Для наглядности результатов вычерчивается график прироста биомассы по фазам развития, проводится сравнительный анализ данных по вариантам опыта.

### **Лабораторная работа 7. Определение чистой продуктивности фотосинтеза и фотосинтетического потенциала посева**

Около 95 % сухой биомассы растительного организма приходится на долю органических веществ, образованных в процессе фотосинтеза. Поэтому изменение сухой массы растений может довольно объективно отражать ассимиляционную активность растений. Одним из показате-

лей, характеризующих продукционный процесс растений, является чистая продуктивность фотосинтеза (ЧПФ). Этот показатель часто используется в научных исследованиях при определении фотосинтетической активности посевов.

**Чистая продуктивность фотосинтеза** – это количество сухого вещества в граммах, накопленного  $1 \text{ м}^2$  листовой поверхности за 1 сутки. Величина этого показателя для различных сельскохозяйственных культур колеблется в пределах  $1 \dots 20 \text{ г/м}^2 \cdot \text{сут}$ .

Для определения чистой продуктивности фотосинтеза в поле берут пробы растений через  $7 \dots 10$  дней или другой промежуток времени, например, в начале и конце определенной фазы развития, определяют сухую биомассу и площадь живых листьев.

Чистую продуктивность фотосинтеза рассчитывают по формуле (11):

$$\text{ЧПФ} = \frac{B_2 - B_1}{0,5 \cdot (L_1 + L_2) \cdot n} \text{ г/м}^2 \cdot \text{сут}, \quad (11)$$

где  $B_1$  и  $B_2$  – сухая биомасса растений в начале и в конце учетного периода, г;

$B_2 - B_1$  – прирост сухой массы за  $n$  дней, г;

$L_1$  и  $L_2$  – площади листьев в начале и в конце периода,  $\text{м}^2$ ;

$0,5 \cdot (L_1 + L_2)$  – средняя площадь листьев за время опыта,  $\text{м}^2$ ;

$n$  – число дней в учетном периоде.

**Ход работы.** На опытных посевах отбирают в 3–4-кратной повторности по 10–20 растений наиболее типичных для данной фазы развития. Растения срезают у самой поверхности почвы или выкапывают с корнями, не допуская их обрыва. В пробу включают все опавшие и засохшие листья и побеги. Обычно массу корней учитывают в точных вегетационных опытах с водной или почвенной культурой. В последнем случае корни осторожно освобождают от почвы, отмывая их водой. Отобранные растения помещают в полиэтиленовые пакеты и переносят в лабораторию. В лаборатории определяют необходимые для расчета ЧПФ показатели:

1. Определяют сырую массу различных частей растений. Для этого растения из каждой повторности расчлениают на отдельные органы (листья, стебли, корни, колосья, зерно) и взвешивают. Пожелтевшие и отмершие листья учитывают отдельно. Результаты (показатель 1) записывают в табл. 13.

2. Из каждой пробы методом случайной выборки берут по 10...20 зеленых листьев и взвешивают их (показатель 2). Затем измеряют их длину и наибольшую ширину, результаты записывают в таблицу.

Таблица 13. Результаты учета сырой и сухой биомассы растений

№ п/п	Съем № ____, дата ____, количество растений в пробе __						
	Показатели		Повторности				Среднее
			1	2	3	4	
1	Сырая биомасса _____ растений, г <small>число</small>	листья живые листья мертвые стебли колосья (зерно)					
2	Сырая масса _____ листьев, взятых для определения площади, г <small>число</small>						X
3	Площадь _____ листьев, м <sup>2</sup> <small>число</small>						X
4	Масса 1 м <sup>2</sup> листьев, г						
5	Площадь всех живых листьев с _____ растений, м <sup>2</sup> <small>число</small>						
6	Навески сырой биомассы на сухое вещество, г	листья стебли колосья (зерно)					X X X
7	Вес биомассы после высушивания, г	листья стебли колосья (зерно)					X X X
8	Процент сухого вещества	листья стебли колосья (зерно)					
9	Сухая биомасса _____ растений, г <small>число</small>	листья стебли колосья (зерно)					X X X
10	Общая сухая биомасса _____ растений, г <small>число</small>						

3. Рассчитывают площадь измеренных листьев (показатель 3) по методике (см. работу 4).

4. Рассчитывают вес 1 м<sup>2</sup> листьев (показатель 4). Для этого вес измеренных 10...20 листьев делят на их площадь, выраженную в м<sup>2</sup>.

5. Рассчитывают площадь всех живых листьев всех растений в пробе (показатель 5). Для этого вес всех живых листьев (показатель 1) делят на вес 1 м<sup>2</sup> листьев (показатель 4).

6. Для определения процента сухого вещества отдельные части растений (листья, стебли, колосья, зерна) тщательно измельчают, берут из них навески 5...10 г (показатель 6).

7. Навески помещают в бюксы или бумажные пакеты и высушивают в сушильном шкафу при температуре 105 °С до постоянной массы (показатель 7).

8. Рассчитывают процентное содержание сухого вещества в листьях, стеблях, колосьях, зерне (показатель 8).

9. Рассчитывают сухую биомассу листьев, стеблей, колосьев, зерна (показатель 9), умножая сырую биомассу этих частей растений (показатель 1) на процент сухого вещества в них (показатель 8).

10. Рассчитывают общую сухую биомассу растений по каждой повторности (показатель 10), суммируя сухую биомассу отдельных частей растений (показатель 9).

Результаты второго и последующих съемов записывают в аналогичные таблицы. Результаты определения сухой биомассы и площади листьев по всем съемам записывают в табл. 14.

Таблица 14. **Результаты определения чистой продуктивности фотосинтеза в посевах** \_\_\_\_\_ культура

Показатели	1-й съем	2-й съем	2-й съем	3-й съем
Количество дней в учетном периоде				
Общая сухая биомасса ___ растений, г				
Прирост сухой биомассы ___ растений за учетный период, г				
Общая площадь листьев с ___ растений, м <sup>2</sup>				
Средняя площадь листьев с ___ растений за учетный период, м <sup>2</sup>				
ЧПФ, г/м <sup>2</sup> · сутки				

Чистую продуктивность фотосинтеза рассчитывают по указанной выше формуле.

На основании полученных результатов делают выводы об активности продукционного процесса у различных сельскохозяйственных культур или ее изменении в процессе онтогенеза.

## Лабораторная работа 8. Определение индекса листовой поверхности и фотосинтетического потенциала посева

*Индекс листовой поверхности* (ИЛП) ( $\text{м}^2/\text{м}^2$ ) – произведение площади листьев одного растения в  $\text{м}^2$  на количество растений на  $1 \text{ м}^2$ . Общая листовая поверхность посева превосходит площадь, которую занимают растения. Чем больше растений приходится на единицу площади и чем выше площадь листьев, тем выше ИЛП. В связи с этим изменение ИЛП по фазам развития связано с изменением площади листьев отдельных растений. Наибольшая величина ИЛП отмечается в начале репродуктивной фазы, после формирования репродуктивных органов образование новых листьев на растении прекращается.

Продуктивность посевов определяется не только величиной, но и длительностью функционирования фотосинтезирующих органов растения. Фотосинтетический потенциал – это обобщающий показатель, который характеризует величину и скорость нарастания или убывания фотосинтезирующей поверхности и продолжительности ее работы.

*Фотосинтетический потенциал посева* (ФП) ( $\text{м}^2 \cdot \text{дн}/\text{га}$ ) – суммарная площадь листьев в посеве, определяется как произведение полусуммы площадей листьев за два смежных измерения на количество дней в учетном периоде, отнесенное на количество растений на  $1 \text{ га}$ .

**Ход работы.** Учет нарастания площади листьев осуществляется по фазам развития, одновременно с учетом показателя чистой продуктивности фотосинтеза. Дополнительно при отборе проб на 3–4 несмежных учетных делянках площадью  $0,25 \text{ м}^2$  подсчитывают количество растений. Находят среднее количество растений на  $1 \text{ м}^2$ .

Выкапывают 5–10 растений. В лаборатории отделяют листовые пластинки от стебля и определяют их площадь (см. работу 4). Находят площадь листьев одного растения (суммарная площадь всех листьев растения).

Индекс листовой поверхности и фотосинтетический потенциал посева определяют расчетным методом.

ИЛП определяется по формуле (12):

$$\text{ИЛП} = S_{\text{л}} \cdot N, \quad (12)$$

где  $S_{\text{л}}$  – площадь листьев одного растения,  $\text{м}^2$ ;  
 $N$  – количество растений на  $1 \text{ м}^2$ , шт/ $\text{м}^2$ .

Фотосинтетический потенциал (ФП) ( $\text{м}^2 \cdot \text{дн}/\text{га}$ ) рассчитывают по формуле (13):

$$\Phi\Pi = \frac{0,5 \cdot (L_1 + L_2) \cdot n}{N}, \quad (13)$$

где  $L_1$  и  $L_2$  – площади листьев в начале и в конце периода,  $\text{м}^2$ ;  
 $0,5 \cdot (L_1 + L_2)$  – средняя площадь листьев за время опыта,  $\text{м}^2$ ;  
 $n$  – число дней в учетном периоде;  
 $N$  – количество растений на 1 га, шт/га.  
 Результаты учета ИЛП и ФП заносят в табл. 15.

Таблица 15. Фотосинтетические параметры по фазам развития

Показатели	Фаза развития					За вегета- цию
Количество дней в учетном периоде						
ИЛП, $\text{м}^2/\text{м}^2$						
Прирост ИЛП за учетный период						
ФП, $\text{м}^2 \cdot \text{дн}/\text{га}$						
Прирост ФП за учетный период						

Динамику изменения ИЛП и ФП за период вегетации отражают в виде графика и делают выводы.

### Лабораторная работа 9. Количественное определение содержания хлорофиллов и каротиноидов

Поглощение и трансформацию электромагнитной энергии света осуществляют пигменты растений. Это красящие вещества различной химической природы, которые также определяют окраску листьев, цветков, плодов и других органов растений.

В растениях содержатся несколько групп пигментов: хлорофиллы, каротиноиды, фикобилины, антоцианы.

Хлорофиллы – пигментами зеленого цвета. Они локализованы в мембранах хлоропластов. У высших растений содержатся хлорофилл *a*, имеющий синеватый оттенок ( $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$ ) и хлорофилл *b*, имеющий желтоватый оттенок ( $\text{C}_{55}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_4\text{Mg}$ ).

Каротиноиды представлены пигментами желтого и оранжевого цвета – каротинами ( $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ ) и ксантофиллами ( $\text{C}_{40}\text{H}_{54}(\text{OH})_2$ ). К каротинам относятся  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -каротины и ликопин, а к ксантофиллам – зеаксантин, криптоксантин, виалоксантин, лютеин.

Фикобилины – пигменты фотосинтезирующих водорослей (фикоцианин, фикоэретрин).

Антоцианы – водорастворимые соединения фенольной природы, которые локализованы в клеточном соке и обладают самой разнообразной окраской. Антоцианы определяют различные оттенки зеленого цвета листьев, окраску цветков.

Содержание хлорофилла специфично для листьев каждого вида и сорта растений и существенно изменяется в зависимости от освещения, минерального питания, возраста листьев и других условий. Среднее содержание хлорофилла в листьях составляет около 1 % сухой массы, а содержание хлорофилла в хлоропластах – около 5–6 %. Установлена зависимость между содержанием хлорофилла и интенсивностью фотосинтеза.

Для количественного определения хлорофилла его извлекают из навески листьев с помощью ацетона или этанола, затем на фотоэлектроколориметре или спектрофотометре определяют оптическую плотность полученного раствора, на основании чего рассчитывают содержание пигментов.

Спектрофотометрический анализ наиболее точный количественный метод определения содержания пигментов листа. Спектрофотометр позволяет выполнять анализ смесей веществ с близкими максимумами поглощения, что достигается за счет использования монохроматора, вследствие чего удается установить содержание хлорофиллов и каротиноидов в вытяжке без их предварительного разделения. Оптическую плотность экстракта на спектрофотометре измеряют при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов *a* и *b*, а красной области спектра и при длине волны абсорбционного максимума каротиноидов. Максимум поглощения несколько меняется в зависимости от используемого растворителя.

#### **Ход работы. 1. Фотозлектроколориметрический метод.**

С растений срезают листья, измельчают ножницами, отбросив черешки и крупные жилки, и берут две навески. Одну навеску массой 4–5 г используют для определения процента сухого вещества в листьях. Ее помещают в бюкс и высушивают до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре 105 °С.

Вторую навеску массой 0,5 г используют для количественного определения хлорофилла. Ее помещают в ступку и растирают с небольшим количеством кварцевого песка и CaCO<sub>3</sub> до однородной массы. Затем приливают 3–4 мл ацетона и продолжают растирание до получения темно-зеленой вытяжки. При определении содержания хлорофилла необходимо полностью извлечь пигмент из точно взятой навески, не допуская потерь.

Полученную ацетоновую вытяжку фильтруют через сухой бумажный фильтр в мерный цилиндр. Фильтр должен быть ниже края воронки на 2–3 мм. Вытяжку отбирают из ступки с помощью специальной пипетки, не захватывая растертую массу, и переносят на фильтр, не допуская потерь. К оставшейся в ступке массе прибавляют еще 1–3 мл ацетона, продолжают растирать, после отстаивания вытяжку переносят на фильтр.

Извлечение хлорофилла производят небольшими порциями ацетона до полного обесцвечивания растительного материала. Затем ступку, пестик и фильтр обмывают небольшими порциями ацетона до полного исчезновения зеленой окраски. Объем вытяжки доводят ацетоном до 25–30 мл. Объем полученной вытяжки записывают в табл. 15. Вытяжку до анализа на ФЭКе помещают в темное место.

Определение оптической плотности полученного раствора производят на фотоэлектроколориметре. Измерения начинают спустя 15 мин после включения прибора. При определении оптической плотности раствора используют светло-красный светофильтр. Измерения проводят не менее трех раз и вычисляют среднее значение оптической плотности. Полученные данные записывают в табл. 16.

Таблица 16. Определение содержания хлорофилла в листьях

Объект (вариант опыта)	Навеска для определения % сухого вещества г		Навеска для определения количества хлорофилла, мг		Оптическая плотность раствора	Концентрация хлорофилла, мг/л	Содержание хлорофилла	
	сырая	сухая	сырая	сухая			в полученном объеме вытяжки, мг	в сырой / сухой массе, %

Наиболее точные результаты получаются при работе на ФЭКе в пределах оптической плотности от 0,1 до 0,4. Если оптическая плотность больше 0,5 вытяжку следует разбавить в два раза. Если показания оптической плотности окажутся ниже 0,08 необходимо выполнить всю работу сначала, взяв большую навеску листьев.

Используя полученную на ФЭКе величину оптической плотности, определяют концентрацию хлорофилла в ацетоновом растворе по калибровочной кривой. Определив концентрацию хлорофилла в раство-

ре, рассчитывают его содержание (в мг) в полученном объеме вытяжки ( $C_{\text{хл}}$ ) по формуле (14):

$$C_{\text{хл}} = \frac{C \cdot V}{1000}, \quad (14)$$

где  $C$  – концентрация хлорофилла в растворе, мг/л;

$V$  – объем полученной вытяжки, мл.

Содержание хлорофилла в процентах ( $X$ ) на сырое вещество вычисляют по формуле (15):

$$X = \frac{C_{\text{хл}} \cdot 100}{H}, \quad (15)$$

где  $C_{\text{хл}}$  – содержание хлорофилла в полученном объеме вытяжки, мг;

$H$  – масса навески, мг.

Содержание хлорофилла в процентах ( $X_{\text{сух}}$ ) на сухое вещество вычисляют по формуле (16):

$$X_{\text{сух}} = \frac{X \cdot 100}{100 - \epsilon}, \quad (16)$$

где  $X$  – содержание хлорофилла в сырой массе, %;

$\epsilon$  – содержание воды в сырой массе, %.

После выполнения расчетов по всем вариантам опыта составляют сводную таблицу и делают выводы.

## **2. Спектрофотометрический метод.**

Получают вытяжки пигментов методом описанным выше. В качестве растворителя используют 96%-ный этиловый спирт.

Полученные вытяжки наливают в кюветы спектрофотометра. В качестве контрольного используют исходный растворитель (этиловый спирт). Кюветы помещают в кюветодержатель. Проводят калибровку ноля прибора на контрольном растворе. Устанавливают длину волны, соответствующую максимуму поглощения пигмента: хлорофилла  $a$  – 665 нм, хлорофилла  $b$  – 649 нм, каротиноидов – 440 нм.

Проводят измерение оптической плотности, а затем рассчитывают концентрацию пигментов (мг/л) по формулам (17–21):

$$C_{\text{хл. } a} = 13,70 \cdot D_{665} - 5,76 \cdot D_{649}; \quad (17)$$

$$C_{\text{хл. } b} = 25,80 \cdot D_{649} - 7,60 \cdot D_{665}; \quad (18)$$

$$C_{\text{хл. } a + \text{хл. } b} = 6,10 \cdot D_{665} + 20,04 \cdot D_{649}; \quad (19)$$

или

$$C_{\text{хл. } a + \text{хл. } b} = 25,1 \cdot D_{654}; \quad (20)$$

$$C_{\text{кар}} = 4,695 \cdot D_{440} - 0,268 \cdot (C_{\text{хл. } a} + C_{\text{хл. } b}). \quad (21)$$

где  $C_{\text{хл. } a}$ ,  $C_{\text{хл. } b}$  – концентрации хлорофиллов  $a$  и  $b$ , мг/л;

$C_{\text{кар}}$  – концентрация каротиноидов, мг/л;

$D$  – оптическая плотность при соответствующей длине волны.

Данные заносят в табл. 17.

Т а б л и ц а 17. **Определение содержания хлорофилла в листьях**

Оптическая плотность ( $D$ ) при длине волны, нм				Содержание пигментов ( $C$ ) в вытяжке, мг/л			каротиноиды
				хлорофилл			
440	649	654	665	$a$	$b$	$a + b$	

Содержание пигментов в процентах в сырой и сухой массе определяют по формулам (15) и (16). Результаты записывают по форме табл. 16.

### **Лабораторная работа 10. Определение водоудерживающей способности растений**

Водоудерживающая способность растений характеризует их способность выдерживать обезвоживание при действии различных неблагоприятных факторов. Хорошо известно, что независимо от того, повышается или понижается температура, снижается ли содержание воды в почвенном растворе или в атмосфере, растение всегда снижает свои функции в результате обезвоживания. Растения считаются устойчивыми к обезвоживанию, если за первые 30 мин после срезания они теряют не более 4...5 % своей массы.

**Ход работы.** Для определения водоудерживающей способности растений с каждого исследуемого участка или варианта опыта (различные культуры или сорта) отбирают по 5–10 растений в трех повторностях и отчлениают у них корневую систему. Надземную массу всех растений взвешивают на весах с точностью до 0,01 г и аккуратно разлаживают на столе так, чтобы они не касались друг друга и не мешали испарению воды листьями. Через 30 мин, 1 ч, 1,5 ч и 2 ч растения взвешивают повторно. По разности между предыдущей массой растений и следующей определяют количество воды, потерянной растениями за каждые 30 мин.

Результаты записывают в табл. 18.

Таблица 18. Динамика водоотдачи у растений

Вариант	Количество растений, шт.	Масса растений, г					Потеря воды растением за каждые 30 мин (мг / % от исходной массы)			
		исходная	через 30 мин	через 1 ч	через 1,5 ч	через 2 ч	через 30 мин	через 1 ч	через 1,5 ч	через 2 ч

Делают пересчет количества потерянной воды в процентах к общей испаряющей массе (первоначальное взвешивание) и по полученным результатам строят диаграмму, характеризующую динамику водоотдачи у растений.

### Лабораторная работа 11. Визуальная диагностика минерального питания растений

Диагностику питания растений подразделяют на почвенную и растительную.

Почвенная диагностика проводится путем агрохимического анализа почвы и сопоставления полученных данных с установленными нормативами.

Растительная диагностика (РД) дает более объективную информацию об обеспеченности растений минеральным питанием.

Различают следующие методы РД (по В. В. Церлинг):

1. Визуальная диагностика – определение нарушения питания по внешнему виду растений.
2. Метод инъекции или опрыскивания. Используют главным образом для диагностики питания микроэлементами.
3. Морфобиометрическая диагностика основана на определении прироста массы, числа и размера органов, величины урожая.
4. Химическая диагностика использует химический анализ растений по фазам их развития.

**Ход работы.** Визуальную диагностику обеспеченности растений элементами минерального питания проводят в поле. Осматривают по 5–10 растений в 4–6 местах, избегая краевых полос.

Наблюдение ведут за изменением окраски, появлением на листьях и стеблях пятен, полос, некрозов тканей и отклонениями в анатомии и морфологии растений (табл. 19).

Таблица 19. Признаки недостатка элементов питания

Элемент	Внешние признаки недостатка
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	Ослабление клеточных стенок, слабое развитие корневой системы, торможение фотосинтеза, растения отстают в росте, подвядают из-за нарушения работы устьиц, снижается устойчивость к стрессам
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 корней
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 Мо бобовые и овощные культуры, хлороз старых листьев, нарушается азотный и фосфорный обмен, уменьшается синтез белка

Проявление дефицита или избытка каждого элемента специфично для определенной культуры. Сложность визуальной диагностики состоит 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 реутилизуемых 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 нереутилизуемых или слабореутилизуемых 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.

## **Лабораторная работа 12. Методика определения изреженности посевов**

Весной, после начала возобновления вегетации, необходимо оценить состояние озимых посевов и степень изреживания их вследствие гибели растений и разработать соответствующие меры для получения высоких урожаев.

**Ход работы.** Определение степени перезимовки после начала весенней вегетации может быть проведено различными методами. Оценка проводится в поле путем осмотра посевов, проходя по диагоналям поля, либо осматривая учетные делянки.

### ***Визуальный метод оценки.***

Перезимовку растений определяют визуально, осмотром всего поля, по пятибалльной шкале:

5 баллов – изреженность стеблестоя незаметна (нет пятен погибших растений).

4 балла – изреженность стеблестоя слабая (количество погибших растений не превышает 25 %).

3 балла – изреженность стеблестоя существенная (погибло около 50 % растений).

2 балла – изреженность стеблестоя сильная (количество погибших растений заметно превышает 50 %).

1 балл – изреженность стеблестоя очень высокая (сохранилось незначительное число растений).

#### ***Дробный или Безенчукский метод оценки.***

Изреженность посевов не всегда бывает равномерной, в связи с этим общая оценка их одним баллом вызывает затруднения (особенно на больших полях). При дробном визуальном методе поле делится на части примерно одинаковые по размеру, и каждую часть оценивают баллом отдельно. Средняя арифметическая оценка и является общим баллом для всего поля.

Например: 1-й участок оценен баллом 5;

2-й участок оценен баллом 3;

3-й участок оценен баллом 4;

4-й участок оценен баллом 4;

$\Sigma = 16$  баллов.

Средняя оценка перезимовки поля равна 4 баллам ( $16 \div 4$ ).

Число частей, на которые делят поле, зависит от его площади, пестроты изреживания растений на нем и степени точности, с какой желательнее оценить перезимовку растений.

#### ***Метод подсчета живых и погибших растений.***

Более объективную оценку получают путем подсчета живых и погибших растений на  $1 \text{ м}^2$ . По диагонали посева, примерно на равном расстоянии друг от друга, накладывают рамки ( $0,5 \times 0,5 \text{ м}$ ). Количество накладываемых рамок (учетных площадок) зависит от площади поля: до 10 га – 4 учетные площадки, от 10 до 30 га – 8, от 30 до 50 га – 12 и свыше 50 – 16 учетных площадок. Рамку накладывают так, чтобы обе ее стороны шли вдоль рядков посева.

Для условий Беларуси лучший срок подсчета – спустя 15–20 дней после начала возобновления весенней вегетации, когда достоверно фиксируется отрастание живых растений, а процесс отмирания не наблюдается.

Если посеы не раскутившиеся, то подсчет ведется на корню. На хорошо раскутившихся посевах растения с пробных площадок выкапывают, а затем подсчитывают количество живых и погибших.

Процент перезимовки растений вычисляется из числа всех выкопанных (живых и погибших) в каждой пробе отдельно. После этого вычисляют среднеарифметический процент перезимовавших растений во всех пробах.

Гибель узлов кушения неизбежно ведет за собой гибель растений. Отличить живой узел кушения от мертвого можно по состоянию и окраске тканей. У живого узла кушения ткани упругие, связанные между собой, белесоватые. У мертвого узла кушения ткани дряблые, легко отделяются одна от другой (размочаливаются), бурые. Отрастание живых растений определяется по началу появления новых (белого цвета) корешков.

На основании визуальной оценки и цифровых данных дается заключение о состоянии озимых посевов на всем поле и рекомендуется комплекс мероприятий по уходу за посевами (боронование, подкормка, уплотнение изреженных посевов другими культурами, например, райграсом однолетним, вико-овсяной смесью) (табл. 20).

Таблица 20. Оценка состояния посевов  
в зависимости от сохранившихся растений на 1 м<sup>2</sup>

Состояние	Число растений, шт/м <sup>2</sup>		
	Озимая рожь	Озимая пшеница	Озимая тритикале
Отличное	не менее 350	не менее 400	не менее 300
Хорошее	250–350	300–400	200–300
Удовлетворительное	150–250	200–300	100–200
Плохое	менее 150	менее 200	менее 100

Для люцерны соответственно: 80 и более, 50–80 и менее 50 растений/м<sup>2</sup>. Следует иметь в виду, что клевер луговой отрастает несколько раньше, чем люцерна, за счет запасов питательных веществ, накопленных в розетке, однако, если корень у отросшего растения при его продольном разрезе окажется мочалистым и буреющим, такое растение считается погибшим. Отрастание побегов у люцерны в силу ее биологических особенностей начинается несколько позднее, чем у клевера, и растения могут показаться погибшими. Чтобы убедиться в обратном, нужно откопать корень, и на корне будут видны зеленовато-фиолетовые укороченные побеги. Не следует ни в коем случае выно-

силь окончательные оценки состояния посевов люцерны и запахивать их, пока не начнется отрастание растений.

Оптимальная густота озимого рапса после перезимовки 50–60 растений/м<sup>2</sup> с хорошо развитой розеткой листьев (6–9 шт.) и корневой шейкой толщиной 6–12 мм. Минимально допустимая густота – 40 растений на 1 м<sup>2</sup> (табл. 21).

Среднее количество живых растений на 1 м<sup>2</sup> \_\_\_\_\_

Проведите оценку перезимовки различными методами, сравните результаты, сделайте выводы.

Таблица 21. Оценка перезимовки растений озимых культур

Метод оценки	Количество растений, шт.			Гибель, %
	всего	живых	погибших	
Визуальный метод, балл				
Дробный визуальный метод, балл				
Метод подсчета живых и погибших растений				

### Лабораторная работа 13. Влияние на растение различных концентраций ростовых веществ

Высокие концентрации ростовых веществ не стимулируют, а угнетают рост растения и даже могут привести его к гибели. Чувствительность к высоким дозам ростовых веществ неодинакова у разных растений, что позволяет использовать ростовые вещества для борьбы с сорняками. Для уничтожения двудольных сорных растений в посевах злаковых применяют производные феноксиуксусной кислоты, в частности 2,4-дихлорфеноксиуксусную 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 (аналог гормона ауксина), а в более высоких концентрациях (выше 1 %) угнетать рост и развитие всех растений в агроценозах.

**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 рас-

тения (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 в табл. 22.

Таблица 22. 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				

#### Лабораторная работа 14. 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 разнообразны, а вызываемый ими эффект имеет много общих черт, предполагают, что в основе предпосевого стимулирования лежат общие физиологические процессы. Все используемые факторы действуют как фоновые раздражители живой протоплазмы, повышающие жизнедеятельность, возбудимость и проницаемость цитоплазмы, активность ферментов, особенно протеолитических. Общий характер реакции растений на обработку определяется дозой и продолжительностью действия.

**Ход работы.** В три чашки Петри на фильтровальную бумагу раскладывают по 25–50 семян льна, свеклы, моркови и других культур. 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 раство-

ром эпина (или другого стимулятора роста), вторую – 0,1%-ным раствором сернистой меди. Объем растворов для опрыскивания – 6 мл. Из каждой партии семян берут по 25 штук 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 определяют количество проросших семян, измеряют длину корней и проростков.

Результаты записывают в табл. 23 и делают выводы.

Таблица 23. Влияние предпосевной обработки на проращивание семян

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

## 2. СПЕЦИАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### 2.1. Зерновые и зернобобовые культуры

#### Лабораторная работа 15. 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.

**Ход работы.** В зимний период в двух-четырёх 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 настолько 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 3–4 см и стебли с листьями на 5–6 см от узлов кушения.

Подготовленные растения помещают в растильни, наполовину заполненные водой (корни и нижняя часть узлов кушения должны находиться в воде). Воду в растильнях меняют каждые два дня. Растения отращивают в освещённом помещении с температурой воздуха 15–20 °С. На седьмой день учитывают живые растения. Погибшие растения не образуют новых листьев и корней из узла кушения. В течение зимне-весеннего периода проводят несколько определений.

Рассчитывают жизнеспособность озимых культур по формуле (22). Данные записывают в табл. 24.

$$Ж_p = \frac{a \cdot 100}{\epsilon}, \quad (22)$$

где  $Ж_p$  – жизнеспособность растений озимых культур, %;

$a$  – количество живых растений, шт.;

$\epsilon$  – общее количество проанализированных растений, шт.

Таблица 24. Определение жизнеспособности озимых культур

Вариант опыта	Дата определения	Количество проанализированных растений, шт.	Количество живых растений, шт.	Жизнеспособность, %

## **Лабораторная работа 16. Определение жизнеспособности озимых зерновых культур окрашиванием тканей**

Жизнеспособность растений может быть определена путем наблюдения за состоянием конуса нарастания. При повреждении растительной ткани увеличивается сродство протоплазмы к красителям ввиду потери полупроницаемости мембран. Окрашивание тканей можно провести красителями, например, кислым фуксином.

**Ход работы.** Для определения состояния клеток конуса нарастания растений озимых зерновых культур через нижнюю часть их побега по центру делают продольный разрез. С одной и другой части стебля делают тонкие продольные срезы, помещают в 0,3%-ный раствор фуксина на 5 мин. Затем при помощи пипетки или капельницы раствор красителя смывают до тех пор, пока удаляемая вода не станет бесцветной. Затем срезы помещают на предметные стекла, накрывают покровными и рассматривают под микроскопом.

Состояние побега оценивают по тому месту среза, где находится конус нарастания, окружающие его листочки и нижняя стеблевая часть. Живые клетки тканей после окрашивания и промывания водой остаются бледно-зелеными или бесцветными, поврежденные окрашиваются в слабо-розовый цвет, погибшие становятся ярко-красными.

Если наиболее развитый побег у растения оказался жизнеспособным, другие побеги не анализируют. Если же главный побег нежизнеспособен, анализируют боковой, а в случае его повреждения последующие побеги.

Рассчитывают жизнеспособность озимых культур по формуле (22).

Результаты записывают по форме табл. 24.

**Материалы и оборудование.** Растения озимых культур, 0,3%-ный раствор кислого фуксина, лезвия, бюксы, капельницы, микроскопы, предметные и покровные стекла.

## **Лабораторная работа 17. 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 закалива-

ния. 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.

**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 плазмолизуют. Количество плазмолизованных клеток и общее количество клеток в поле зрения микроскопа подсчитывают.

Результаты записывают по форме табл. 25.

Делают выводы о степени закаливания.

Таблица 25. Определение степени закаливания растений

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

### **Лабораторная работа 18. Определение вклада листьев разных ярусов зерновых культур в формирование элементов продуктивности**

Скорость роста растений, в том числе листьев, может быть выражена в виде S-образной кривой. Постоянно меняющиеся условия внешней среды влияют на физиологические показатели и вызывают торможение или активизацию роста и развития в целом. Неблагоприятные условия могут ускорить переход к генеративному развитию, снизив скорость ростовых процессов.

Листья разных ярусов растений как фотосинтезирующие органы вносят вклад в формирование элементов продуктивности. Так, к началу выхода в трубку ювенильные листья постепенно отмирают и функции поставщиков продуктов ассимиляции в репродуктивные органы выполняют листья других ярусов. В формировании элементов продук-

тивности у растений наибольший вклад вносит, очевидно, лист, который на момент определения имеет наибольшую величину и высокую физиологическую активность.

**Ход работы.** С каждого варианта отбирается по 10 характерных растений с одинаковым числом ярусов листьев. Линейкой измеряют длину и ширину самой широкой части листовой пластинки каждого листа по ярусам у всех растений. Средние величины длины и ширины 10 листьев для каждого яруса, а затем площадь листьев по каждому ярусу рассчитывают по формуле (23).

$$S = a \cdot b \cdot 0,7, \quad (23)$$

где  $S$  – площадь листа, см<sup>2</sup>;

$a$  – длина листа, см;

$b$  – ширина листа, см.

Результаты записывают в табл. 26.

Таблица 26. **Морфологические параметры листьев растений**

Параметр	Повторность	Ярус листьев				
		1	2	3	4	5
Длина ( $a$ ), см						
Ширина ( $b$ ), см						
Площадь листьев ( $S$ ), см <sup>2</sup>						

По средним величинам длины, ширины и площади листьев каждого яруса строят кривые ярусной изменчивости морфологических параметров листьев. Делают выводы о вкладе листьев различных ярусов в формировании элементов продуктивности.

### **Лабораторная работа 19. Выявление апикального доминирования у гороха**

У многих растений верхушка побега подавляет пробуждение спящих почек и рост боковых побегов. Это явление называют апикальным доминированием, оно отражает коррелятивные взаимоотношения между главным и боковыми побегами растения. Удаление или повреждение верхушки главного побега снимает апикальное доминирование, что вызывает пробуждение спящих почек и рост боковых побегов. Горох принадлежит к тем видам растений, у которых сильно выражено апикальное доминирование. Для обнаружения этого явления удаляют верхушку побега гороха и через несколько суток отмечают появление боковых побегов.

**Ход работы.** Берут сосуд с растениями гороха. Одни растения оставляют интактными (контроль), у других срезают верхушку побега (опыт). Сосуд с растениями ставят в теплицу. Через 5–7 суток сравнивают контрольные и опытные растения, для чего подсчитывают число и измеряют длину боковых побегов у каждого растения. Данные записывают в табл. 27.

Таблица 27. Апикальное доминирование у гороха

Вариант опыта	Число боковых побегов	Длина боковых побегов, см	
		каждого	суммарная
Контроль (интактное растение)			
Опыт (декапитированное растение)			

### Лабораторная работа 20. Определение содержания суммарных белков в зерне спектрофотометрическим методом

Ароматические аминокислоты тирозин и триптофан, содержащиеся в белках, поглощают свет в области 280 нм. Однако в этой области сильное поглощение ультрафиолетовых лучей обнаруживают и нуклеиновые кислоты, хотя в целом пик поглощения ими ультрафиолета приходится на 260 нм. Поэтому при определении концентрации белка в растворах названным методом показания светопоглощения (оптическая плотность) снимают при 280 и 260 нм. Содержание белков определяют по уравнению Варбурга-Христиана (24):

$$C = 1,55 \cdot D_{280} - 0,76 \cdot D_{260}, \quad (24)$$

где  $C$  – концентрация белка, мг/мл;

$D_{280}$  и  $D_{260}$  – светопоглощение раствора белков при 280 и 260 нм;

1,55 и 0,76 – расчетные коэффициенты.

**Ход работы. 1. Выделение суммарных белков из сухого растительного материала.** Взвешивают на аналитических весах 0,3–1,0 г муки зерновых или зернобобовых культур. Навеску помещают в коническую колбу на 100 мл, заливают 50 мл боратного буфера с pH 10, содержащего 0,2 % бисульфита натрия, и пять-шесть капель октилового спирта. Колбу тщательно закрывают пробкой и оставляют на 1 ч при комнатной температуре.

Содержимое колбы взбалтывают на ротаторе в течение часа. Затем раствор отстаивают в течение 15 мин. При помощи пипетки из верхней

части раствора осторожно отбирают 10 мл и переносят в центрифужные пробирки, помещенные в специальный штатив. Центрифугируют 15 мин. Пипеткой отбирают 1 мл надосадочной жидкости и переносят в другую чистую пробирку. Туда же приливают 9 мл боратного буфера с рН 10 и перемешивают.

**2. Определение содержания белка на спектрофотометре.** В одну из кварцевых кювет спектрофотометра наливают раствор исходного боратного буфера (контроль) и устанавливают ее в первое гнездо кюветодержателя. В другие три кюветы помещают исследуемые растворы белков. Устанавливают калибровку ноля на контрольном растворе. Снимают показатели оптической плотности растворов при длинах волн 260 и 280 нм. Результаты записывают в табл. 28.

Таблица 28. **Определение содержания белков в растении**

Вариант	Масса навески ( $H$ ), г		Объем экстракта белков ( $V$ ), мл	Оптическая плотность ( $D$ ) при длине волны		Концентрация белков ( $C$ ), мг/мл	Содержание белков в навеске	
	сырая	сухая		260 нм	280 нм		в мг ( $M$ ) $C \cdot V$	в % $\frac{M \cdot 100}{H \cdot 1000}$

### **Лабораторная работа 21. Обнаружение алкалоидов в растительном материале**

Алкалоиды – это органические основания, как правило, содержащие азот и обладающие физиологически активным действием. Они синтезируются в разных органах растений. Пути биосинтеза и предшественники различных алкалоидов в растениях неоднородны. Они могут рассматриваться как промежуточные соединения, через которые в растениях происходят превращения азотистых веществ и, возможно, обезвреживаются и сохраняются метаболиты азотного обмена.

В растениях алкалоиды содержатся в виде солей яблочной, лимонной и других органических кислот и накапливаются в корнях, стеблях, листьях и семенах. Наиболее интенсивный синтез алкалоидов происходит в молодых органах.

Алкалоид горденин содержится в прорастающих семенах ячменя (до 0,2 %), рицинин – во всех частях растений клещевины (0,2–2,5 %),

пиперин – в семенах черного перца (5–9 %), никотин – в листьях табака и махорки (4–5 %), кокаин – в листьях растения кока (1–2 %), лупенин, спартеин и лупанин – в семенах люпина (1–3 %), хинин – в коре хинного дерева (2–5 %), морфин – в млечном соке незрелых головок мака (0,2–1,0 %), кофеин – в зернах кофе (1–3 %) и в листьях чая (2–4 %).

Для алкалоидов характерна цветная реакция с йодом в йодистом калии, при взаимодействии образуется красно-бурая окраска.

**Ход работы.** С набухших семян люпина снимают семенную кожуру, семена разделяют на две семядоли помещая их на стеклянную пластинку. На их поверхность наносят несколько капель раствора йода в йодистом калии. Спустя несколько минут определяют интенсивность красно-бурой окраски на поверхности семян. Интенсивность окраски обозначается значками: слабая (+), средняя (++), сильная (+++), отсутствует (–). Результаты наблюдений заносят в табл. 29.

Таблица 29. Наличие алкалоидов в семенах люпина

Вид люпина	Интенсивность окраски	Наличие алкалоидов

По результатам работы делают выводы о наличии алкалоидов в семенах различных видов люпина (многолетнего, желтого, узколистного и белого).

### **Лабораторная работа 22. Влияние гетероауксина на укоренение черенков фасоли**

Гетероауксин вызывает усиленное образование корней и черенков травянистых (особенно фасоли) и древесных растений. На этом основано применение его в сельском хозяйстве для размножения черенками трудно укореняющихся растений.

**Ход работы.** Берут 10-дневные проростки фасоли высотой 10–13 см. Срезают у основания четыре одинаковых по высоте и общему развитию проростка. Подрезают их под водой примерно на 1 см. Два проростка (контроль) помещают в стакан или колбу с водопроводной водой, а два других (опыт) – в такую же посуду с 0,01%-ным раствором гетероауксина на 3 ч.

Затем черенки вынимают из раствора гетероауксина, ополаскивают их у основания водопроводной водой, погружают в воду на глубину

4–5 см и оставляют на свету при температуре около 20 °С до образования корней. В конце опыта учитывают число возникших корней (среднее) и делают вывод о действии гетероауксина.

Результаты учета записывают в табл. 30.

Таблица 30. Влияние гетероауксина на укоренение черенков

Вариант опыта	Количество образовавшихся корешков, шт.	Усиление корнеобразования	
		шт.	% к контролю
1. Водопроводная вода (контроль)			
2. 0,01%-ный раствор гетероауксина			

### Лабораторная работа 23. Определение содержания клетчатки

Клетчатка (целлюлоза) – наиболее широко распространенный полисахарид в растениях и самое распространенное органическое вещество на Земле. Основные источники получения – волокна хлопчатника и волокнистых растений (льна, конопли, джута), солома и древесина. Клетчатка важный компонент грубых и сочных кормов, во многом определяющий их качество. В желудке жвачных животных она переваривается под действием особых бактерий, выделяющих фермент целлюлазу.

Метод определения клетчатки основан на том, что при обработке пробы растительного материала смесью концентрированных азотной и уксусной кислот происходит растворение жиров, гидролиз белков, окисление многих органических соединений, сопровождающих клетчатку. При этом не затрагивается реакция разложения самой клетчатки.

**Ход работы.** На аналитических весах берут 1–3 г воздушно-сухого растительного материала, измельченного до 3–4 мм, и помещают в коническую колбу емкостью 100–150 мл с пришлифованным шариковым обратным холодильником. Одновременно определяют влажность растительного материала отвешивая навеску 3–5 г, высушивают ее в сушильном шкафу при 105 °С и повторно взвешивают. По убыли массы рассчитывают содержание сухого вещества (в %).

В колбе навеску заливают 25–30 мл смеси уксусной и азотной кислот, колбу ставят на кипящую водяную баню и соединяют с обратным холодильником. Гидролиз проводят в течение 1–1,5 часов. Заканчивают, когда растительный материал в колбе полностью побелеет.

Клетчатку в колбе промывают 3–4 раза горячей дистиллированной

водой (по 40–50 мл). Затем количественно смывают дистиллированной водой в стеклянный тарированный тигель Гуча с пористым дном для фильтрования под разрежением. Осадок на фильтре промывают 3–4 раза горячей дистиллированной водой (до исчезновения запаха уксусной кислоты), затем 5 мл этилового спирта и дважды такими же объемами серного эфира. После окончания промывания тигель с клетчаткой высушивают и термостате при температуре 105 °С до постоянной массы и взвешивают.

Содержание клетчатки определяют по формуле (25):

$$C_{\text{кл}} = \frac{(a - c) \cdot 100 \cdot 100}{H \cdot (100 - B)}, \quad (25)$$

где  $C_{\text{кл}}$  – содержание клетчатки, % на сухую массу;

$a$  – масса тигля с осадком, г;

$c$  – масса пустого тигля, г;

$B$  – содержание влаги, %;

$H$  – навеска, г.

Результаты опыта записывают по форме табл. 31.

Таблица 31. **Определение содержания клетчатки**

Вариант опыта	Навеска ( $H$ ), г	Масса тигля, г		Влажность ( $B$ ), %	Содержание клетчатки, % на сухую массу ( $C_{\text{кл}}$ )
		пустого ( $c$ )	с навеской ( $a$ )		

## 2.2. Картофель и корнеплоды

### Лабораторная работа 24. Прерывание периода покоя у клубней картофеля с помощью тиомочевины

Покоем называют состояние растения, которое характеризуется отсутствием видимого роста, крайней степенью угнетенности дыхания и снижением интенсивности обмена веществ. Покой – это нормальное физиологическое состояние растений и его следует рассматривать как закрепленное наследственностью биологическое приспособление к перенесению неблагоприятного времени года.

Различают вынужденный и глубокий покой. Вынужденный обуславливается неблагоприятными внешними условиями (недостаток влаги, тепла, света и т. д.), в то время как глубокий – внутренними

биохимическими и физиологическими причинами. Период глубокого покоя свежесубранных клубней картофеля, который длится около 2–3 месяцев, можно прервать с помощью различных химических веществ.

**Ход работы.** 5–10 клубней картофеля одинаковой величины, находящихся в состоянии покоя, заливают в стеклянной банке 2%-ным раствором тиомочевины (опыт), а в другой банке – водопроводной водой и оставляют на 2–3 часа. Затем клубни высаживают во влажный песок в поддонники и помещают в теплицу при 20–25 °С.

Через 2 и 3 недели подсчитывают количество проросших клубней, делают вывод о значении обработки картофеля тиомочевинной.

Результаты опыта записывают в табл. 32.

Таблица 32. Влияние тиомочевины на прорастание клубней картофеля

Вариант опыта	Число проросших клубней, шт.		Стимулирование прорастания клубней, % к контролю
	через 2 недели	через 3 недели	
Контроль			
Раствор тиомочевины, 2 %			

### Лабораторная работа 25. Определение содержания крахмала поляризметрическим методом

В основу метода положен предварительный гидролиз крахмала раствором соляной кислоты. Затем в полученном гидролизате измеряют угол вращения поляризованного луча света. Естественный свет или свет от электрической лампы характеризуется волновыми колебаниями, одинаковыми во всех направлениях. Проходя через кристалл исландского шпата, свет приобретает волновые колебания в одной плоскости и, таким образом, становится поляризованным. Плоскость, в которой происходят колебания поляризованных лучей света, называется плоскостью поляризации.

Проходя через прозрачный раствор моносахарида (глюкозы), поляризованный луч света поворачивается вокруг своей оси на некоторый угол, что обусловлено наличием асимметрических атомов углерода в молекулах глюкозы. Величина угла вращения плоскости поляризации пропорциональна концентрации глюкозы в растворе. Определение угла вращения проводят в монохроматическом желтом свете при длине волны 589,3 нм в поляриметре.

**Ход работы.** На аналитических весах берут навеску растительного материала (1–2 г муки семян зерновых или зернобобовых культур, 5 г мезги картофеля) и переносят в мерную колбу на 100 мл, используя 50 мл дистиллированной воды. Добавляют 3 мл 25%-ной соляной кислоты, перемешивают и помещают в кипящую водяную баню на 15 мин при частом перемешивании.

После гидролиза крахмала колбу вынимают, охлаждают под проточной водой, добавляют дистиллированной воды до 75–80 мл. Для осаждения белков и осветления раствора в колбу приливают 5 мл 5%-ного раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты. При отсутствии этого реактива – 1 мл 30%-ного раствора сульфата цинка и затем после встряхивания – 1 мл 15%-ного раствора железосинеродистого калия.

Раствор в колбе перемешивают и доводят до метки дистиллированной водой. Содержимое колбы фильтруют через двойной складчатый фильтр. Чистым фильтратом заполняют поляризационную трубку длиной 200 мм, надвигая стеклышко так, чтобы не осталось пузырьков воздуха, завинчивают гайку и измеряют угол вращения плоскости поляризации.

Содержание крахмала определяют по формуле (26):

$$C_{\text{кр}} = \frac{a \cdot V \cdot 0,3465 \cdot 100}{H \cdot L \cdot K}, \quad (26)$$

где  $C_{\text{кр}}$  – содержание крахмала, %;

$a$  – угол вращения по поляриметру, град.;

$V$  – объем фильтрата, мл;

$H$  – навеска, г;

$L$  – длина трубки, дм;

$K$  – переводной коэффициент (для пшеницы – 189,8; кукурузы – 187,9; ржи – 188,5; ячменя – 191,2; овса – 191,4; риса – 186,6; проса – 181,8; гречихи – 187,6; картофеля – 178,0).

Результаты опыта записывают по форме табл. 33.

Таблица 33. **Определение содержания крахмала**

Вариант опыта	Навеска, г	Угол вращения, град	Переводной коэффициент	Содержание крахмала, %

## Лабораторная работа 26. Определение содержания крахмала с помощью поляриметра

Крахмал – полисахарид растений, который запасается в зерне, клубнях, корнеплодах и плодах в виде крахмальных зерен различной формы и размеров. Крахмал состоит из двух компонентов – амилозы и амилопектина.

Содержание крахмала зависит от вида и сорта растений, а также почвенно-климатических условий, удобрений, орошения и др. Знание этих зависимостей позволяет управлять процессом накопления крахмала в урожае.

Многие углеводы обладают оптической активностью, т. е. способностью вращать плоскость поляризованного света вправо (+) или влево (-). При определенных условиях опыта величина отношения угла вращения  $\alpha$  к плоскости поляризации  $[\alpha]_D$  есть величина постоянная и характерная для каждого оптически активного вещества.

Для количественного определения крахмала широко применяют поляриметрические методы. Крахмал сначала гидролизуют, а затем в гидролизате определяют угол вращения с помощью поляриметра. Содержание крахмала рассчитывают по приведенной ниже формуле.

**Ход работы.** *Гидролиз крахмала.* Семена злаков или бобовых культур тщательно измельчают на мельнице. Берут навеску ( $5 \pm 0,001$ ) г, переносят ее в мерную колбу на 100 мл, приливают 12,5 мл 1%-ного раствора соляной кислоты, хорошо размешивают, затем приливают еще 12,5 мл этого же раствора.

Колбу нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. Во время кипячения содержимое систематически перемешивают. Сначала содержимое колбы загустевает за счет клейстеризации крахмала а затем разжижается за счет гидролиза до глюкозы.

После гидролиза крахмала в колбу приливают 30 мл воды и содержимое охлаждают под водопроводной водой. Затем в колбу приливают 5 мл фосфорно-вольфрамовой кислоты и после взбалтывания доводят объем водой до метки 100 мл. До анализа раствора на поляриметре СМ-1 можно хранить в холодильнике. Условия гидролиза должны быть одинаковыми для всех проб.

При определении крахмала в клубнях картофеля из них предварительно извлекают сахара концентрированным спиртом. Для этого к средней пробе клубней, измельченной на измельчителе (или в ступке), добавляют концентрированный этиловый спирт, перемешивают и от-

фильтровывают на бумажном фильтре. Фильтрат выбрасывают, а из оставшейся массы берут навеску ( $15 \pm 0,001$ ) г, дополнительно растирают ее в ступке в 5 мл 5%-ной соляной кислоты до однородной массы. Затем полученную смесь переносят в мерную колбу на 100 мл, ступку и пестик несколько раз ополаскивают 1%-ной соляной кислотой и объем доводят до 25 мл. Колбу нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. В дальнейшем поступают так, как указано выше, при определении крахмала в муке семян.

Перед определением угла вращения полученный экстракт фильтруют в сухую колбу. Исследуемые растворы должны быть прозрачными (бесцветны или слабо окрашены).

*Подготовка прибора.* Поляриметр (рис. 6) состоит из поляризатора и анализатора, разделенных промежутком для помещения поляриметрической трубки с раствором изучаемого вещества, источника света и блока питания. Шкала на лимбе поляриметра разделена на градусы от 0 до  $360^\circ$ . Измерения проводят с помощью нониусов, которые имеют по 10 делений (цена одного деления 0,05). При измерении следует пользоваться двумя нониусами, расположенными на противоположных концах, для учета эксцентриситета круга при больших углах вращения. Перед определением угла вращения нужно проверить нулевую точку прибора. Для этого производят наблюдения с помощью поляриметрической трубки, наполненной водой. Включают блок питания 5 источника света 4. Окуляр 6 анализатора устанавливают на резкость по глазу перемещением муфты 7. Затем вращают винт 8, приводящий анализатор в движение вправо или влево, добиваясь равномерности освещения и однородности поля зрения (рис. 7). При этом нулевые деления круга и нониуса должны совпадать (рис. 6).

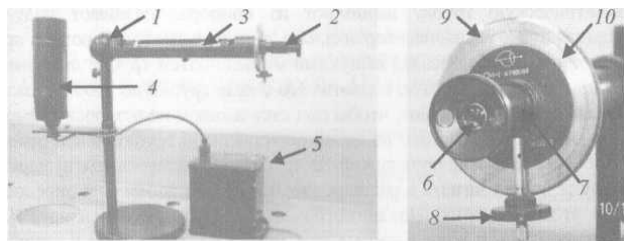


Рис. 6. Поляриметр СМ-1 с круговой шкалой: 1 – поляризатор; 2 – анализатор; 3 – поляриметрическая трубка с анализируемым раствором; 4 – источник света; 5 – блок питания; 6 – окуляр анализатора; 7 – муфта окуляра; 8 – винт анализатора; 9 – круг; 10 – нониус

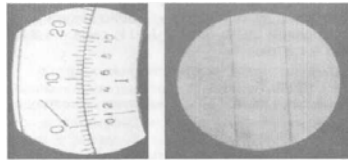


Рис. 7. Нониус с круговой шкалой и виды полей зрения поляриметра: начальное положение нониуса (а) после установки анализатора на равную яркость частей поля зрения (б) при введенной кювете с водой; вид поля зрения (в) после ввода наполненной анализируемым раствором кюветы

При несовпадении нулевого деления и круга нониуса делают несколько отсчетов и устанавливают среднюю поправку (+) или (-). Отсчеты производят до сотых долей градуса.

*Определение угла вращения гидролизованного крахмала.* Поляриметрическую трубку вынимают из прибора, выливают воду и наполняют ее, удерживая вертикально, испытуемым раствором до краев так, чтобы образовался выпуклый мениск. Затем трубку прикрывают круглым стеклышком, надвигая его с края трубки до необходимого положения, и наблюдают, чтобы под стеклышком не осталось пузырьков воздуха. После этого на поляриметрическую трубку навинчивают шайбу с резиновой прокладкой. В трубках с расширением пузырьки воздуха можно загнать в расширение, чтобы они не мешали определению угла вращения. Поляриметрическую трубку с анализируемым раствором вкладывают в промежуток между поляризатором и анализатором и закрывают шторку.

Отсчет угла вращения производят по шкале, соединенной с анализатором, который вращают вокруг оси прибора с помощью винта 8. Если плоскость поляризации анализатора будет установлена под правильным углом, то лучи от призм поляризатора будут проходить одинаково через анализатор и обе половины поля зрения и будут освещены одинаково, но слабо (рис. 7, б). Измерения проводят по двум нониусам. Угол вращения устанавливают с учетом поправки, определенной ранее.

Содержание крахмала в зерне злаков вычисляют по формуле (27):

$$x = k \cdot a \cdot 100 / 0,3468 \cdot (100 - b), \quad (27)$$

где  $x$  – содержание крахмала, % на сухое вещество;

$k$  – переводной коэффициент (для пшеницы – 1,898; кукурузы – 1,879; ржи – 1,885; ячменя – 1,912; овса – 1,914; риса – 1,866; проса – 1,818; гречихи – 1,876);

$a$  – угол вращения, град;  
 $b$  – влажность размолотого зерна, %.

Содержание крахмала в клубнях картофеля вычисляют по следующей формуле (28):

$$x = V \cdot a \cdot 100 \cdot 0,3468 / 195,4 \cdot g \cdot n, \quad (28)$$

где  $x$  – содержание крахмала, % на сырое вещество;

$V$  – объем гидролизата, мл;

$a$  – угол вращения, град;

$g$  – длина трубки, дм;

$n$  – масса навески, г;

195,4 – фактор для крахмала картофеля, соответствующий  $[a]_D$ ;

0,3468 – коэффициент перевода в градусы круговой шкалы.

Полученные данные заносят в табл. 34 и делают выводы.

Таблица 34. Результаты определения крахмала в семенах и клубнях

Объект	Масса навески, г	Угол вращения, град	Содержание крахмала, %

### Лабораторная работа 27. Определение запасного крахмала в семенах (по Починку)

Во многих семенах и плодах сельскохозяйственных культур, основной запасной формой углеводов является крахмал. Крахмал – полисахарид, состоящий из амилазы и амилопектина, которые также являются полисахаридами, но обладают меньшей молекулярной массой и отличаются друг от друга по физическим и химическим свойствам.

Объемный метод по Починку включает следующие операции: 1) экстракцию крахмала; 2) осаждение крахмала в виде комплексного соединения с йодом; 3) окисление комплекса бихроматом калия в кислой среде (при этом выделяется углекислый газ и вода); 4) разрушение избытка бихромата калия раствором KI (в качестве одного из продуктов реакции выделяется йод); 5) титрование йода гипосульфитом натрия. Содержание крахмала рассчитывают по количеству затраченного при титровании гипосульфита.

**Ход работы. 1. Экстракция крахмала из растительного материала.** На аналитических весах взвешивают 300 мг высушенных зерновок пшеницы или семядолей гороха, отобранных в различные периоды их

формирования, помещают в фарфоровую ступку, приливают 5 мл 80%-ного раствора  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  и тщательно растирают. Если материал растирается плохо, добавляют немного прокаленного кварцевого песка. В среднем на операцию растирания навески затрачивают 8–10 мин. После этого содержимое ступки количественно переносят в коническую колбу на 150 мл, обмывая каждый раз небольшими порциями ступку и пестик. Необходимо следить за тем, чтобы объем экстракта в колбе не превышал 30 мл. Затем ее накрывают маленькой воронкой, ставят на электроплитку с закрытой спиралью и снабженной терморегулятором и не очень сильно кипятят в течение 3 мин. Затем колбочку снимают с плитки и оставляют при комнатной температуре для охлаждения. После этого экстракт крахмала количественно переносят в мерную колбу на 100 мл, а коническую колбу несколько раз ополаскивают 80%-ным  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , каждый раз сливая промывной раствор в мерную колбу. Затем содержимое мерной колбы доводят до метки 80%-ным  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , плотно закрывают и несколько раз перемешивают. Перед следующей операцией раствор крахмала фильтруют через складчатый фильтр (белая лента).

**2. Осаждение крахмала из раствора.** Две порции фильтрата по 5 мл каждая помещают в центрифужные пробирки емкостью 10 мл. В каждую из пробирок вносят 2 мл 0,5%-ного раствора йода в йодистом калии, содержимое перемешивают стеклянной палочкой и пробирки оставляют при комнатной температуре на 30 мин. За это время выпадает осадок, который представляет собой комплекс крахмала и йода. Дальнейшей операцией является отмывание осадка. Из пробирок вынимают стеклянные палочки, пробирки уравнивают между собой, помещают в центрифугу и содержимое центрифугируют в течение 10 мин при 8000–10000 г. Надосадочную жидкость отбрасывают, а осадок еще 3 раза промывают 5%-ным раствором  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  добавляя его по 5 мл и взмучивая после этого осадок стеклянной палочкой. Надосадочную жидкость после каждого центрифугирования отбрасывают.

**3. Окисление комплекса крахмал-йод.** Промытые осадки комплекса крахмала с йодом количественно переносят в конические колбы на 200 мл, каждый раз обмывая пробирки небольшим количеством воды. Объем водной суспензии в конической колбе не должен превышать 3 мл. Затем в каждую колбу приливают по 10 мл 0,25 н. раствора  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , растворенного в 85%-ной серной кислоте, содержимое колб перемешивают и сразу помещают на кипящую водяную баню на 15 мин для окисления комплекса.

**4. Разрушение избытка бихромата калия.** Через 15 мин колбы снимают с бани и охлаждают, затем наливают в каждую по 5 мл

20%-ного раствора KI и 120 мл воды и осторожно перемешивают. В результате разложения бихромата в раствор выделяется йод.

**5. Титрование йода.** Выделившийся йод оттитровывают 0,1 н. раствором гипосульфита. Титрование лучше проводить с использованием магнитной мешалки. Скорость добавления раствора гипосульфита натрия – 25–30 капель в 1 мин. Сначала титрование ведут до появления желтой окраски, затем в колбы приливают по 1 мл 0,5%-ного раствора крахмала и титруют до перехода интенсивной сине-голубой окраски в бледно-голубую. 1 мл 0,1 н. раствора гипосульфита соответствует 0,675 мг крахмала.

Проводят контрольное определение количества гипосульфита натрия, затрачиваемого на связывание йода, который выделяется в период разрушения бихромата. Для этого в коническую колбу на 200 мл наливают 120 мл воды, 10 мл 0,25 н. раствора  $K_2Cr_2O_7$  и 5 мл 20%-ного раствора KI. В колбу опускают якорек магнитной мешалки, содержимое перемешивают и титруют 0,1 н. раствором гипосульфита натрия так же, как и исследуемые растворы.

Содержание крахмала (С, %) в исследуемом образце рассчитывают по формуле (29):

$$C = \frac{0,675 \cdot V \cdot (a - a_1)}{V_1 \cdot H} \cdot 100 \%, \quad (29)$$

где  $a$  и  $a_1$  – количество 0,1 н. раствора гипосульфита натрия, затраченного при титровании контрольного и исследуемого растворов, мл;

$V$  – объем, в котором растворена навеска, мл;

$V_1$  – объем раствора, взятого для осаждения крахмала, мл;

$T$  – поправка к титру 0,1 н. раствора гипосульфита;

$H$  – навеска растительного материала, г.

Результаты оформляют в виде табл. 35.

Таблица 35. Определение содержания крахмала

Объект исследования	Навеска материала (H), г	Исходный объем экстракта крахмала (V), мл	Объем экстракта, взятый для осаждения крахмала ( $V_1$ ), мл	Израсходовано раствора		Содержание крахмала (C), %
				На контрольный образец (a)	На исследуемый образец ( $a_1$ )	
Контроль						

## Лабораторная работа 28. Определение содержания каротина

Каротин относится к большой группе каротиноидов – желтых и оранжево-красных пигментов. В организме животных и человека каротин гидролизуется с образованием витамина А. Наибольшей активностью обладает 3-каротин.

**Ход работы.** *Приготовление адсорбционной колонки.* Адсорбционная колонка представляет собой цилиндрическую трубку, суженную на одном конце. В суженный конец закладывают небольшой кусочек ваты, сверху насыпают чистый порошок  $Al_2O_3$  слоем 1 см.

*Подготовка растительного материала.* Навеску 0,5–1,0 г листьев измельчают и растирают в ступке с песком до получения однородной массы. Затем добавляют  $Al_2O_3$  в таком количестве, чтобы смесь имела хорошую сыпучесть и светло-зеленый цвет. Растертую смесь через сухую воронку всыпают в адсорбционную колонку, узкий конец которой вставляют в отверстие резиновой пробки, которая хорошо побрана к колбе, соединенной с системой, обеспечивающей разряжение.

Для получения вытяжки каротина в адсорбционную трубку вливают чистый бензин. Колонку промывают под разряжением до трех пор, пока вытекающий бензин не будет бесцветным.

*Порядок работы на фотоэлектроколориметре.* Прибор (фотоэлектроколориметр КФК-2) включают в сеть и устанавливают синий светофильтр с длиной волны 420 нм. После 15-минутного прогрева в световой пучок помещают кювету с бензином 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.

Величину  $a$  определяют на основании калибровочного графика, который строится с использованием стандартного раствора.

Расчет содержания каротина проводят по формуле (30).

$$C_k = \frac{a \cdot V \cdot 100}{H}, \quad (30)$$

где  $C_k$  – содержание каротина, мг в 100 г сырой массы;

$a$  – содержание каротина в растворе, мг на литр;

$V$  – объем вытяжки, мл;

$H$  – навеска, мг.

Полученные результаты записывают по форме табл. 36.

Таблица 36. **Определение содержания каротина**

Объект исследования	Навеска, мг	Объем вытяжки, мл	Оптическая плотность	Содержание каротина в 100 г сырой массы

### 2.3. Масличные культуры

#### **Лабораторная работа 29. Определение содержания масла в семенах с помощью рефрактометра (по А. И. Ермакову)**

Жиры и жироподобные вещества (липоиды) относят к липидам. Жиры – сложные эфиры трехатомного спирта глицерина и высокомолекулярных жирных кислот. В состав жиров входит несколько десятков жирных кислот, имеющих, как правило, четное число атомов углерода. В растительных жирах преобладают непредельные жирные кислоты, имеющие низкую температуру плавления, – олеиновая, ленолевая, леноленовая. Поэтому растительные жиры имеют жидкую консистенцию и их называют маслами. Жиры выполняют в основном функцию запасных питательных веществ.

К липоидам относят фосфоглицериды, гликолипиды, воска и стероиды. *Фосфоглицериды* выполняют структурную функцию – являются основными компонентами мембран клетки. *Гликолипиды* содержатся в зеленых частях растений (накапливаются в хлоропластах) и повышают питательную ценность продукции растениеводства. *Воска* тугоплавкие соединения, выполняющие защитную функцию. Они входят в состав кутикулы и предохраняют растения от иссушения и поражения болезнями.

Рефрактометрический метод основан на использовании различий в коэффициентах преломления исследуемого масла и  $\alpha$ -монобромнафталина, который хорошо растворяет масла на холоде и не обладает большой летучестью благодаря высокой температуре кипения (280 °С). При растворении масла показатель преломления смеси понижается на величину, пропорциональную количеству растворенного масла. Содержание масла рассчитывается по приведенной ниже формуле.

**Ход работы.** Семена масличных культур предварительно очищают от оболочек и высушивают. Ядра или семена тонко измельчают. Берут навески 300...500 мг на торсионных или аналитических весах. Навески высыпают в малые фарфоровые ступки, приливают в них с помощью

микробюретки точный объем *a*-монобромнафталина. Соотношение между навеской муки и объемом растворителя должно быть 3:4. Навеску тщательно растирают пестиком до однородного состояния, оставляют для растворения масла на 3...5 мин и повторно растирают. Затем специальной пипеткой, на конце которой вставлен ватный фильтр, отбирают несколько капель раствора масла и определяют показатель преломления при температуре, близкой к 20 °С, на рефрактометре ИРФ-22 или другом. На каждый градус температуры выше и ниже 20 °С вносят поправку (+) или (–) 0,0004. Содержание масла в семенах вычисляют по формуле (31):

$$x = \frac{ap(n_6 - n_c)}{m(n_c - n_m)} \cdot 100 \%, \quad (31)$$

где *x* – содержание масла в семенах, %;

*a* – объем *a*-монобромнафталина, мл;

*p* – плотность масла, г/мл;

*m* – масса навески масла, г;

*n*<sub>6</sub> – показатель преломления *a*-монобромнафталина;

*n*<sub>с</sub> – показатель преломления определяемой смеси;

*n*<sub>т</sub> – показатель преломления масла.

Результаты определения заносят в табл. 37.

Таблица 37. Содержание масла в семенах различных культур

Культура	Масса навески, г	Показатели преломления			Содержание масла, %
		<i>a</i> -монобромнафталина	смеси	масла	

### Лабораторная работа 30. Быстрый рефрактометрический метод определения йодного числа масел

Физико-химические свойства жиров (масел) характеризуют несколько показателей (констант), важнейшими из которых являются температура плавления, кислотное число, число омыления и йодное число.

**Температура плавления** – это температура перехода жира из твердого состояния в жидкое. Чем ниже молекулярная масса, тем выше степень неопределенности жирных кислот, входящих в состав жира, тем ниже температура их плавления. Растительные жиры имеют

низкую температуру плавления – плавятся, как правило, при отрицательных температурах. При плюсовых температурах они имеют жидкую консистенцию и поэтому называются маслами.

**Кислотное число** характеризует содержание в жирах свободных жирных кислот. Кислотное число жира – это количество миллиграммов гидроксида калия, которое необходимо для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира. Жиры с высоким кислотным числом имеют низкое качество, например масла, полученные из незрелых семян или с длительным сроком хранения.

**Число омыления** характеризует среднюю величину молекулярной массы ацилглицеринов, входящих в состав жиров.

**Йодное число** – это количество граммов галогена (в пересчете на йод), которое способно присоединяться к 100 г жира. Йодное число характеризует степень непредельности жирных кислот, входящих в состав жира. Жиры с высоким йодным числом содержат больше непредельных жирных кислот, которые по своей биологической роли приравнивают к витаминам (витамин F). Таким образом, чем выше йодное число, тем выше биологическая питательная ценность жира.

Жиры (масла) с очень высоким йодным числом способны быстро окисляться и высыхать на воздухе. При этом образуются летучие альдегиды, кетоны и низкомолекулярные кислоты, имеющие специфический, запах, на поверхности масла образуется тонкая прочная и устойчивая к внешним воздействиям пленка. Такие масла используют в лакокрасочной промышленности для получения олиф, лаков, красок.

Пищевые жиры (масла) с высоким йодным числом при хранении легко прогоркают – изменяется их цвет, запах и вкус. Хранить их следует при пониженных температурах и в герметичной таре.

Йодные числа большинства животных жиров колеблются в пределах 30...70, а растительных – в пределах 120...160.

Приведенный в данной работе *рефрактометрический метод* является удобным для сравнительной оценки и отбора образцов в процессе селекции растений с повышенным йодным числом масла в семенах. Метод сочетает простой способ получения нативного масла путем холодного прессования семян с вычислением йодных чисел по показателям преломления, определяемых на рефрактометре.

**Цель работы:** определить йодное число масел, полученных из семян подсолнечника, льна, рапса или других масличных культур.

**Ход работы.** Для получения масла используют специальный пресс высокого давления. В стальной пресс-стакан насыпают около 2 г грубо

измельченных высокомасличных семян (выше 25 %) или 3...10 г семян с низким содержанием масла (15...25 %). Мелкие семена засыпают не измельчая. В стакан вставляют плотно входящий пестик-поршень. Стакан подставляют под пресс и доводят давление до 100 кг/см<sup>2</sup>. Масло, выступившее вокруг поршня на поверхность пресс-стакана, собирают пипеткой, на конце которой вставлен ватный фильтр. Профильтрованное через вату масло насасывается внутрь пипетки резиновой грушей.

Показатель преломления определяют на рефрактометре при температуре, близкой к 20 °С.

Для каждого образца получают по две пробы масла, в которых определяют показатели преломления. Результаты заносят в табл. 38.

Величину йодного числа вычисляют по формуле (32), в которую подставляют среднюю величину показателя преломления, полученную для двух параллельных проб масла, взятых из одного образца:

$$J = (nD_{20} - 1,4595) \cdot 100 / 0,0118, \quad (32)$$

где  $J$  – йодное число;

$nD_{20}$  – показатель преломления масла при температуре 20 °С.

Таблица 38. Результаты определения йодного числа масла

Культура	Показатель преломления ( $nD_{20}$ )			Йодное число масла
	1-я проба	2-я проба	среднее	

### Лабораторная работа 31. Определение содержания жиров рефрактометрическим методом

Жиры выполняют функцию запасных высокоэнергетических веществ, откладывающихся в плодах и семенах. Они представляют собой смесь сложных эфиров глицерина и высокомолекулярных жирных кислот.

При прорастании семян одна часть запасных жиров используется на дыхание, а другая – в реакциях обмена веществ превращается в углеводы и передвигается к точкам роста. Снижение содержания жиров в зародыше, эндосперме и семядолях сопровождается изменением состава свободных жирных кислот. Превращение жиров идет в присутствии ферментов, активность которых увеличивается при прорастании семян.

Извлечение жиров из исследуемых растительных объектов выполняют при помощи нелетучего органического растворителя, а затем определяют показатель преломления извлеченного раствора жиров и растворителя, которые значительно различаются между собой. Концентрацию жиров в исследуемом объекте рассчитывают по разности коэффициентов преломления. В качестве растворителя жиров семян берут хлорнафталин.

**Ход работы.** Навеску муки 5 г помещают в фарфоровую ступку, добавляют кварцевый песок, приливают 5 мл хлор нафталина. Смесь тщательно растирают, затем добавляют еще 15 мл хлорнафталина и продолжают растирание до получения мелкодисперсной кашицы. Смесь фильтруют через бумажный фильтр. Первые капли фильтрата отбрасывают.

Для определения содержания жира используют жировой рефрактометр (РЖ). Для этого барабан штгучера рефрактометра переводят в положение *I* и отсчеты делают по шкале. Затем, открыв камеру рефрактометра, равномерно наносят оплавленной палочкой на одну часть измерительной призмы четыре-пять капель профильтрованного раствора жиров. Капли должны быть средних размеров. Верхнюю часть камеры плавно закрывают до соприкосновения с нижней камерой. Лимб нониуса устанавливают на ноль и, наблюдая в окуляр, направляют луч освещения на выходную грань осветительной призмы.

В поле зрения появляются две границы светотени: нижняя, близкая к показателю преломления растворителя, и верхняя, близкая к показателю преломления раствора. Необходимо установить осветитель так, чтобы была видна одна граница светотени. Поворотом кольца монохроматора устраняют дисперсию, добиваясь обесцвечивания границы светотени. Резкость и видимость улучшают передвижением осветителя и диафрагмы, находящихся впереди осветительного окна.

Затем по шкале *I* делают отсчет. Показатель преломления определяют с точностью до 0,0002, а по нониусу – 0,00002. Установив лимб нониуса снова на ноль, осветитель перемещают горизонтально до получения второй резкой границы светотени и, устранив дисперсию, делают отсчет. Перед новым определением тщательно протирают измерительную и осветительную призмы этиловым эфиром, а затем сухой ватой.

Показатели преломления растворителя и раствора определяют три раза и за конечный результат берут среднее значение. Содержание жира вычисляют по формуле (33).

$$C_{\text{жир}} = (a + b \cdot D_{\text{ж}}) \cdot D_{\text{ж}}, \quad (33)$$

где  $C_{\text{жир}}$  – содержание жира, %;

$a$  – коэффициент, показывающий сколько жира приходится на отсчет 0,0001 при данном растворителе, %;

$b$  – постоянная величина для растворителя, равная 16 900;

$D_{\text{ж}}$  – разность между показателем преломления растворителя и раствора.

Результаты записывают по форме табл. 39.

Таблица 39. **Определение содержания жира**

Вариант опыта	Навеска, г	Показатели преломления по шкале			Содержание жира, %
		для растворителя	для раствора	разность	

### **Лабораторная работа 32. Обнаружение углеводов при прорастании семян масличных культур**

Распад жиров наиболее интенсивно протекает при прорастании семян масличных культур. Образующиеся при гидролизе жира глицерин и жирные кислоты вовлекаются в реакции обмена веществ, промежуточными продуктами которого являются углеводы (моносахариды). Моносахариды относятся к редуцирующим сахарам. Они способны восстанавливать серноокислую медь до закиси меди, на чем и основан предлагаемый метод обнаружения углеводов.

**Ход работы.** Берут две пробы семян подсолнечника по 10–15 штук. Первая проба – сухие семена, вторая – прорастающие.

Семена переносят в ступки и растирают с кварцевым песком, добавляют по 10–15 мл воды и фильтруют через вату в пробирки. Объем фильтрата не должен быть больше 1/4 части пробирок. В каждую пробирку добавляют равный объем фелинговой жидкости и, встряхивая, доводят до кипения. Результаты опыта записывают по форме табл. 40.

Таблица 40. **Схема и результаты опыта**

Вариант опыта	Результат реакции с фелинговой жидкостью	Причина
Сухие семена		
Прорастающие семена		

### Лабораторная работа 33. Определение кислотного числа растительных масел

Кислотное число – количество миллиграммов едкого калия, необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира. Величина кислотного числа характеризует пищевое достоинство масла. Обычно жиры содержат незначительное количество свободных жирных кислот, однако при их хранении и в процессе прорастания семян содержание жирных кислот может значительно повышаться.

**Ход работы.** Взвешивают чистую сухую колбу на 100 мл. В нее помещают 3–5 г масла, добавляют 10 мл смеси спирта с эфиром (1:2) (опытная проба). Колбу с маслом энергично встряхивают в течение 5 мин. Добавляют 3–5 капель 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина, 0,1 н. спиртовым раствором КОН титруют до появления розовой, не исчезающей в течение 30 с, окраски. Одновременно проводят контрольное титрование. 10 мл смеси спирта с эфиром помещают в колбу, добавляют 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н. спиртовым раствором КОН.

Результаты опыта записывают по форме табл. 41 и делают выводы.

Таблица 41. Определение кислотного числа масел

Вариант опыта	Навеска масла, г	Количество 0,1 н. КОН на титрование пробы, мл		Кислотное число, мл 0,1 н. КОН на 1 г
		опыт	контроль	

Кислотное число определяют по формуле (34)

$$K. \text{ ч.} = \frac{(a - b) \cdot T \cdot 5,61}{H}, \quad (34)$$

где К. ч. – кислотное число, мл 0,1 н. раствора КОН на 1 г масла;  
*a* – количество 0,1 н. раствора КОН, пошедшее на титрование опытной пробы, мл;  
*b* – количество 0,1 н. раствора КОН, пошедшее на титрование контрольной пробы, мл;  
*T* – поправка к титру щелочи;  
*H* – навеска масла, г.

### Лабораторная работа 34. Определение содержания эруковой кислоты в маслах рапса, сурепицы и белой горчицы

Эруковая кислота ( $C_{22}H_{42}O_2$ ) является вредной для животного организма, придает маслу неприятный горький вкус. Ее количество зависит от вида, сорта растений и условий их выращивания. Принцип метода основан на различной скорости помутнения раствора масла в этаноле, нагретом до  $70\text{ }^\circ\text{C}$  и последующим его охлаждением до  $20\text{--}21\text{ }^\circ\text{C}$ .

**Ход работы.** Из 2 г семян отжимают прессом масло. Микропипеткой отбирают 0,1 мл масла в пробирку, затем добавляют 8 мл 96%-ного этилового спирта, закрывают пробкой и хорошо встряхивают для растворения масла. После этого пробирку помещают в ультратермостат, нагретый до  $70\text{ }^\circ\text{C}$ . Спустя 2 мин, избегая встряхивания, пробирку помещают на водяную баню при  $20\text{--}21\text{ }^\circ\text{C}$  (в большом стакане) для охлаждения, сразу же включают секундомер и ведут наблюдение за помутнением раствора. Секундомер останавливают, когда весь раствор в пробирке помутнеет. Скорость помутнения устанавливают по нескольким измерениям (2–3 повторения). Содержание эруковой кислоты определяют по шкале (табл. 42).

Таблица 42. Шкала для определения эруковой кислоты

Время помутнения раствора, с	80–71	70–61	60–51	50–41	40–28	27–18
Содержание эруковой кислоты, %	0–1	2–5	6–12	13–18	19–26	27–50

## 2.4. Плодово-ягодные и овощные культуры

### Лабораторная работа 35. Определение содержания дубильных веществ

Дубильные вещества, или танины, широко распространены в растениях. Они образуются и накапливаются в листьях, оболочках семян и плодов, в коре стеблей и корней травянистых и древесных растений.

**Ход работы.** Около 2 г (точная навеска) измельченного сырья, просеянного сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, заливают 250 мл нагретой до кипения воды и кипятят с обратным холодильником на электроплитке с закрытой спиралью в течение 30 мин при периодическом перемешивании. Жидкость охлаждают до комнатной температуры и процеживают (около

100 мл) в коническую колбу на 200–250 мл через вату так, чтобы частицы сырья не попали в колбу. Затем отбирают пипеткой 25 мл полученной жидкости (опытная проба) в другую коническую колбу вместимостью 750 мл, прибавляют 500 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании раствором перманганата калия (0,02 моль/л) до золотисто-желтого цвета.

Параллельно проводят титрование контрольной пробы. Для этого 25 мл нагретой до кипения воды помещают в колбу на 750 мл, прибавляют 500 мл дистиллированной воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты. Титруют при постоянном перемешивании раствором перманганата калия (0,02 моль/л) до золотисто-желтого окрашивания. 1 мл раствора перманганата калия (0,02 моль/л) соответствует 0,004157 г дубильных веществ в пересчете на танин. Одновременно определяют содержание влаги в анализируемом сырье.

Содержание дубильных веществ в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле (35):

$$ДВ = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 25 \cdot (100 - W)}, \quad (35)$$

где ДВ – содержание дубильных веществ, %;

$V$  – объем раствора перманганата калия (0,02 моль/л), израсходованного на титрование опытной пробы, мл;

$V_1$  – объем раствора перманганата калия, израсходованного на титрование контрольной пробы, мл;

$a$  – масса сырья, г;

$W$  – влажность, %.

### **Лабораторная работа 36. Колориметрический метод определения сахаров**

Сахарами называют углеводы, хорошо растворимые в воде и имеющие сладкий вкус. К ним относятся моно- и олигосахариды. Сахара являются основными продуктами фотосинтеза, субстратами дыхания, транспортными формами углеводов, защитными и запасными веществами растений. Сахара могут накапливаться в плодах, фруктах, ягодах и корнеплодах в значительных количествах. При этом в корнеплодах они распределяются неравномерно – больше в шейке корнеплода, меньше в сердцевине, головке и кончике корня. Это следует учитывать при определении сахаристости корнеплодов.

Используемый в работе метод определения сахаров основан на изменении интенсивности окраски раствора глицерата меди при кипячении его с вытяжками сахаров. Интенсивность окраски определяется с помощью фотоэлектроденситометра по величине оптической плотности раствора, которая в последующем переводится в концентрацию (при этом используется график, построенный по оптической плотности прокипяченного раствора глицерата меди с растворами сахаров известной концентрации). Содержание сахаров рассчитывается по приведенной ниже формуле.

**Цель работы:** определить содержание сахаров в корнеплодах репы, сахарной и кормовой свеклы.

**Ход работы.** Выделяют и измельчают отдельные части корнеплода или тщательно перемешивают полностью измельченный корнеплод. Из средней пробы отвешивают  $(5-10 \pm 0,01)$  г материала. Навеску помещают в микро- или макроразмельчитель (или ступку), приливают 10-кратный объем нагретой до  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  воды и измельчают (растирают) в течение 3...5 мин до однородного состояния. Одновременно происходит экстракция сахаров из клеток (клеточного сока) корнеплода.

После охлаждения гомогената из него для определения общего количества моно- и дисахаридов пипеткой отбирают 0,5 мл прозрачной вытяжки в сухую пробирку и добавляют в нее 0,5 мл 1%-ного раствора соляной кислоты. После перемешивания содержимого пробирку помещают на кипящую водяную баню на 15 мин, затем в пробирку добавляют 15 мл глицерата меди и нагревают еще ровно 6 мин. После этого пробирку снимают с водяной бани и охлаждают в холодной воде.

Смесь отстаивают, прозрачную жидкость переносят в другую пробирку и определяют оптическую плотность раствора на фотоэлектроденситометре КФК-2 (см. работу 20) при длине волны 582 нм (ручку устанавливают в положение 7).

Для определения редуцирующих сахаров отбирают по 1 мл вытяжки и, прилив 15 мл глицерата меди, нагревают на кипящей водяной бане, далее поступают, как указано выше.

Концентрацию сахаров определяют по графику, построенном по оптической плотности растворов глюкозы известной концентрации (от 0,5 до 10 мг глюкозы в 1 мл раствора).

Количество сахаров вычисляют по формуле (36):

$$X = a \cdot V \cdot 100 / (m \cdot 1000), \quad (36)$$

где  $X$  – содержание сахаров, %;

$a$  – концентрация сахаров в пробе, найденная по калибровочной кривой, мг/мл;  
 $V$  – объем вытяжки, полученной из навески, мл;  
 $m$  – масса навески, г;  
 100 – коэффициент перевода в проценты;  
 1000 – коэффициент перевода граммов в миллиграммы.  
 Результаты заносят в табл. 43.

Таблица 43. Содержание сахаров в корнеплодах

Культура	Части корнеплода	Содержание сахаров, %

### Лабораторная работа 37. Определение потребности растений в удобрениях методом листовой и тканевой диагностики (по В. В. Церлинг)

Листовая и тканевая диагностика – это контроль за условиями питания растений по содержанию неорганических форм соединений элементов в тканях или листьях свежих растений, соке из них или вытяжке из растений. Она позволяет определить содержание азота, фосфора, калия и других элементов в отдельных частях растения уже на ранних этапах роста и развития, пока у растений не появились внешние признаки голодания.

Тканевую диагностику проводят несколько раз за период вегетации:

- 1 – начало кущения;
- 2 – стеблевание, начало трубкования;
- 3 – трубкование;
- 4 – цветение.

При помощи тканевой диагностики можно определить содержание элементов в растениях, выяснить целесообразность подкормок на разных этапах роста и развития растений.

Для тканевой диагностики лучше всего использовать экспресс-метод, разработанный В. В. Церлинг, который позволяет быстро определить в баллах содержание азота, фосфора и калия в растениях и рассчитать нормы подкормки.

Для определения нуждаемости растений в подкормках можно ограничиться анализом лишь той части растений, где искомое вещество локализуется в наибольших количествах. Так, для зерновых культур на

разных этапах роста и развития для анализа берут следующие части растений: в фазе кущения – всю надземную часть, в фазе выхода в трубку – 3-й лист снизу, в фазе колошения – «флаговый» лист и лист, находящийся на один ярус ниже, в фазе цветения – молодые листья боковых побегов, в фазу полной спелости – зерно и солому.

Если в этих частях искомое вещество отсутствует или находится в малом количестве, то это указывает на необходимость подкормки.

**Ход работы.** В поле отбирают 2–3 растения каждого варианта, отчленяют от них те части растений, которые можно использовать для диагностических целей в соответствии с фазой развития, на которой они находятся в момент определения.

*Определение нитратов.* На предметное стекло кладут с промежутками 1–2 см срезы стеблей или листьев, наносят на каждый из них по одной капле дифениламина и следят за появлением синей окраски. По интенсивности цвета, сравнивая его с цветной шкалой (табл. 44), устанавливают сначала содержание азота в баллах и находят дозу азотных удобрений для подкормки.

*Внимание!* Все реактивы для листовой диагностики приготовлены на концентрированных кислотах, поэтому нужно соблюдать необходимые меры предосторожности при работе с ними.

Таблица 44. **Оценочная шкала для определения обеспеченности растений нитратным азотом и доз азота в подкормку**

Балл	Характер окрашивания пятен	Потребность растений в азотном удобрении
6	Раствор и ткань быстро и интенсивно окрашиваются в иссиня-черный цвет. Окраска устойчивая	Не нуждаются, избыток нитратов
5	Раствор и ткань сразу окрашиваются в темно-синий цвет. Окраска сохраняется	Не нуждаются, нитратов достаточное количество
4	Раствор и ткань сразу окрашиваются в синий цвет. Окраска появляется не сразу	Слабо нуждаются
3	Окраска светло-синяя, исчезает через 2–3 мин	Средне нуждаются
2	Окрашивание светло-голубое	Нуждаются
1	Следы голубой, быстро исчезающей окраски	Сильно нуждаются
0	Порозовение бумаги, обугливание	Очень сильно нуждаются

*Определение фосфатов.* Из листьев отжимают сок, каплю его наносят на фильтровальную бумагу, на нее капают каплю молибдата аммония. Отпечатку дают слегка подсохнуть и затем последовательно наносят по капле бензидина и насыщенного раствора ацетата натрия.

После этого появляется синяя окраска отпечатков сока на фильтровальной бумаге. Полученную окраску оценивают по 6-балльной шкале (табл. 45).

Таблица 45. Шкала для определения потребности растений в фосфатном удобрении

Балл	Окраска раствора на бумаге или ткани	Потребность растений в фосфатных удобрениях
5	Пятно и ткань темно-синие	Не нуждаются
4	Синяя	Слабо нуждаются
3	Светло-синяя	Средне нуждаются
2	Серо-голубая	Нуждаются
1	Слабо-серо-голубая	Сильно нуждаются
0	Нет синего или голубого окрашивания	Очень сильно нуждаются

*Определение калия.* Каплю сока из листьев исследуемых растений наносят на фильтровальную бумагу. Затем на пятно наносят каплю раствора кобальт-нитрита натрия, а затем каплю соляной кислоты. Полученную окраску оценивают по 6-балльной шкале (табл. 46).

Таблица 46. Определение потребности растений в калийном удобрении

Балл	Окраска раствора на бумаге или ткани	Потребность растений в калийных удобрениях
5	Красно-суриковая	Не нуждаются
4	Красно-оранжевая	Слабо нуждаются
3	Оранжевая	Средне нуждаются
2	Желто-оранжевая	Нуждаются
1	Соломенно-желтая	Сильно нуждаются
0	Лимонно-желтая	Очень сильно нуждаются

Результаты определений записывают по форме табл. 47.

Таблица 47. Потребность растений в элементах питания

Вариант опыта	Анализируемая часть растения	Азот		Фосфор		Калий	
		балл	потребность	балл	потребность	балл	потребность

### Лабораторная работа 38. Определение содержания нитратов в растениях

Растительный белок в своем составе содержит азот в восстановленной форме. При поглощении растениями нитратного азота под действием ферментативных систем через серию последовательных реакций происходит восстановление нитратного азота до аммиака, который участвует в процессе образования аминокислот и амидов.

При благоприятных условиях вегетации содержание нитратов в растениях незначительно и стабильно. Их количество резко возрастает при чрезмерном азотном питании, недостатке фосфора и калия, а также микроэлементов, особенно молибдена, при повышенной кислотности почв, в условиях недостаточного освещения и при других причинах.

Попадая в организм животных и человека, нитраты могут переходить в нитриты, которые реагируют с аминами с образованием нитрозаминов, обладающих канцерогенными и мутагенными свойствами. Нитриты могут соединяться с гемоглобином крови и вызывать метгемоглобинемию.

Содержание нитратов в растениеводческой продукции служит показателем качества при ее реализации, а также позволяет установить определенные закономерности азотного метаболизма в растениях и их изменения в зависимости от факторов внешней среды.

**Ход работы.** Свежий растительный материал измельчают и перемешивают. Берут навеску 12,5 г и помещают в стакан гомогенизатора. К навеске приливают 50 мл 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов и гомогенизируют в течение 2 мин при 6000 об/мин. При отсутствии гомогенизатора навеску растительного материала растирают в ступке с кварцевым песком до однородной массы. Затем, используя 50 мл 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов, навеску переносят в стаканчик и перемешивают стеклянной палочкой в течение 2–3 минут.

В подготовленных гомогенизатах измеряют потенциал нитратного ионселективного электрода ( $pNO_3^-$ ) на иономере, предварительно по стандартным растворам отрегулировав его шкалу.

Содержание нитратов в мг на кг сырой массы определяют по формуле (37):

$$CNO_3^- = \text{Antilog} (4,75 - pNO_3^-), \quad (37)$$

где  $CNO_3^-$  – содержание нитратов, мг на кг сырой массы;  
 $pNO_3^-$  – потенциал нитратного ионселективного электрода.

Сухой растительный материал, поступающий на анализ для определения нитратов, измельчают до размера частиц не более 1 мм. Берут навеску 0,5 г, приливают 50 мл 1%-ного раствора алюмокалиевых квасцов, встряхивают на ротаторе или перемешивают в течение 30 мин.

В подготовленных гомогенизатах измеряют потенциал нитратного ионселективного электрода ( $pNO_3^-$ ) на иономере.

Содержание нитратов в мг на кг сухой массы определяют по формуле (38):

$$CNO_3^- = Antilog (6,15 - pNO_3^-), \quad (38)$$

где  $CNO_3^-$  – содержание нитратов, мг на кг сырой массы;

$pNO_3^-$  – потенциал нитратного ионселективного электрода.

Результаты опыта записывают по форме табл. 48.

Таблица 48. Содержание нитратов в растениях

Растительный материал	$pNO_3^-$	$NO_3^-$ , мг/кг	ПДК, мг/кг	Качество продукции

*Приготовление стандартного 0,1 М раствора.* 10,11 г  $KNO_3$  перекристаллизованного, высушенного при температуре 100–105 °С до постоянной массы взвешивают с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в 1%-ном растворе алюмокалиевых квасцов в колбе на 1 л и доводят объем до метки. Из этого раствора последовательным 10-кратным разбавлением (алюмокалиевыми квасцами) готовят рабочие растворы с концентрацией 0,01 М; 0,001 М; 0,0001 М. Полученные растворы используют для калибровки прибора.

### Лабораторная работа 39. Определение содержания органических кислот

Органические кислоты относят к веществам вторичного происхождения. Они являются промежуточными продуктами обмена углеводов липидов и белков, образуются в цикле Кребса, цикле Кальвина, глиоксилатном цикле, при гидролизе и окислении жиров, дезаминировании аминокислот. Органические кислоты являются исходными веществами

для синтеза многих важных органических соединений – аминокислот, фитогормонов, пигментов, витаминов и др.

Органические кислоты накапливаются в значительных количествах в листьях, корнях, овощах, плодах и ягодах (особенно недозревших) и определяют их кислый вкус. В растениях наиболее часто встречаются яблочная, лимонная, янтарная, винная, фумаровая, щавелево-уксусная, щавелевая кислоты. Однако степень кислотности плодов, ягод, овощей определяется не только количественным и качественным составом органических кислот, но и содержанием в них сахаров.

Органические кислоты отличаются хорошей растворимостью в воде. Это свойство используется для их выделения из растительных тканей. Количество органических кислот устанавливают путем титрования 0,1 н. раствором NaOH. При этом нейтральные соли органических кислот почти не учитываются, титруют в основном свободные кислоты и кислые соли органических кислот. Содержание кислот рассчитывается по приведенной ниже формуле.

**Ход работы.** Навеску растительного материала массой 10 г измельчают на терке или растирают в ступке. Затем без потерь переносят в широкогорлую колбу вместимостью 200 мл, обмывая несколько раз ступку и пестик дистиллированной водой. Объем смеси в колбе доводят дистиллированной водой до 150 мл. Затем колбу нагревают в водяной бане при температуре 80 °С в течение 30 мин. Через каждые 5 мин содержимое колбы взбалтывают для лучшей экстракции кислот.

После охлаждения объем жидкости в колбе доводят водой до 200 мл, содержимое колбы взбалтывают и фильтруют в сухой стакан или колбу вместимостью 50 мл. Полученный фильтрат используют для количественного определения кислот. Для этого 50 мл фильтрата переносят в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляют несколько капель спиртового раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором NaOH до розовой окраски.

В том случае если исследуемый раствор сильно окрашен и переход окраски при титровании определить трудно, используют индикаторную бумагу, на которую наносят несколько капель смеси титруемого раствора, и цвет индикатора сравнивают со шкалой.

Содержание органических кислот в растительном материале рассчитывают по формуле (39):

$$X = \frac{a \cdot T \cdot 200 \cdot 100}{H \cdot 50 \cdot 10}, \quad (39)$$

где  $X$  – количество кислот в растительном образце, мг-экв/100 г;  
 $a$  – объем 0,1 н. NaOH, пошедший на титрование, мл;  
 $T$  – поправка к титру щелочи;  
200 – общий объем вытяжки, мл;  
100 – коэффициент перевода на 100 г навески;  
50 – объем фильтрата, взятый для титрования, мл;  
10 – коэффициент перевода в миллиграмм-эквиваленты кислот (1 мл 0,1 н. раствора NaOH соответствует 0,1 мг-экв кислоты);  
 $H$  – масса навески материала, г.

Содержание органических кислот часто рассчитывают не в миллиграмм-эквивалентах на 100 г, а в процентах. Для этого результат, полученный по указанной выше формуле, умножают на коэффициент перевода, означающий количество граммов определенной кислоты, соответствующей 1 мл 0,1 н. раствора NaOH. Для яблочной кислоты коэффициент перевода равен 0,0067; для щавелевой – 0,0045; для лимонной – 0,0064; для винной – 0,0075. В зависимости от преобладания той или иной органической кислоты в изучаемом объекте для пересчета используют соответствующий коэффициент.

Обычно кислотность большинства плодов и овощей выражают в яблочной кислоте, ягод – в лимонной, винограда – в винной.

Результаты опытов заносят в табл. 49.

Таблица 49. Результаты определения кислотности растительных тканей

Объект	Масса навески, г	Объем 0,1 н. NaOH, пошедший на титрование, мл	Содержание органических кислот	
			мг-экв/100 г	%

#### Лабораторная работа 40. Определение суммы органических кислот

Органические кислоты растений разнообразны по своему строению, некоторые из них широко распространены в различных органах. Органические кислоты являются продуктами превращения углеводов, при синтезе белков они образуют углеродные скелеты аминокислот. Количественное содержание органических кислот в растениях подвержено суточным и сезонным колебаниям, а также зависит от почвенно-климатических условий выращивания и приемов агротехники.

**Ход работы.** Исследуемый растительный материал измельчают,

берут навеску 3–5 г и тщательно растирают в ступке с кварцевым песком. Используя 50 мл дистиллированной воды, за несколько приемов содержимое ступки переносят в плоскодонную колбу, которую ставят на плитку, доводят до кипения и фильтруют. Фильтрат переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят до метки дистиллированной водой. После перемешивания колбы берут вытяжку 25 мл, добавляют 2–3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором КОН до появления устойчивой розовой окраски. Титрование повторяют 2 раза. В расчетах используют среднее значение из двух титрований. Содержание органических кислот определяют по формуле (40), результаты записывают по форме табл. 50.

$$C_k = \frac{a \cdot V \cdot K \cdot 100}{m \cdot H}, \quad (40)$$

где  $C_k$  – содержание органических кислот, % на сырую массу;

$a$  – количество 0,1 н. КОН, пошедшей на титрование, мл;

$V$  – общий объем полученного фильтрата из пробы, мл;

$m$  – объем вытяжки, взятой для титрования, мл;

$H$  – навеска, г;

$K$  – пересчетный коэффициент, г кислоты на 1 мл 0,1 н. КОН (яблочная – 0,0067, винная – 0,0075, лимонная – 0,0064, щавелевая – 0,0045).

Таблица 50. Определение содержания органических кислот

Растительный материал	Навеска, г	Количество 0,1 н. КОН на титрование, мл	Преобладающая кислота	Пересчетный коэффициент	Содержание органических кислот, % на сырую массу

### Лабораторная работа 41. Определение глубины покоя почек древесных растений

Степень глубины покоя определяется содержанием липидов в точках роста. В состоянии глубокого покоя почки содержат много липидов, в состоянии вынужденного покоя эти вещества отсутствуют. Реактивом на липиды является судан-III – красный краситель. Предлагаемую работу целесообразно проводить в декабре и в феврале, чтобы сравнить глубину покоя почек.

**Ход работы.** Берут веточку с почкой. Не отделяя почку, срезают 1/3 ее толщины. Затем делают 1–3 тонких продольных среза, помещают их на предметное стекло и заливают раствором судан-III. Через минуту рассматривают срезы под микроскопом при малом увеличении. Липиды окрашиваются в оранжевый цвет. Сравнивают количество липидов в почках разных пород, а также в листовых и цветочных почках. Результаты записывают по форме табл. 51. Делают выводы.

Таблица 51. Содержание липидов в почках

Вариант опыта	Декабрь (I определение)		Февраль (II определение)	
	наличие липидов	глубина покоя	наличие липидов	глубина покоя

### Лабораторная работа 42. Количественное определение содержания углеводов методом Шоорля

Метод основан на учете количества окисной меди в фелинговой жидкости. Разница в содержании окисной меди между контролем и опытом соответствует количеству восстановленной моносахаридами меди. Учет окисной меди производят йодометрически.

**Ход работы.** Растительный материал очищают и измельчают на терке. Берут две навески по 2,5 г (для сахарной свеклы 1 г). Одна навеска используется для определения моно- и дисахаридов, а вторая для определения крахмала.

*Определение моносахаридов и дисахаридов.* Навеску 2,5 г растертого растительного материала переносят в колбочку на 200 мл, добавляют 50 мл дистиллированной воды и настаивают в течение 10 мин, кипятят 5 мин и фильтруют. Фильтрат переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят водой до метки. В фильтрате определяют моно- и дисахариды.

#### Определение моносахаридов.

5 мл вытяжки переносят в колбу, добавляют 20 мл дистиллированной воды, затем 10 мл фелинговой жидкости из бюретки, ставят на плитку и после закипания кипятят ровно 2 мин.

Содержимое колбы охлаждают проточной водой, добавляют 5 мл 30%-ного раствора KI, приливают 5 мл 25%-ного раствора H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> из бюретки, добавляют 3–5 капель 1%-ного раствора растворимого крахмала (индикатор). После добавления крахмала желто-золотистый цвет жидкости в колбочке потемнеет, появится зеленоватый оттенок.

Содержимое колбы титруют 1%-ным раствором гипосульфита натрия до цвета топленого молока. Конец титрования определяют внесением капли крахмала. Если появляется синее окрашивание – титрование не окончено. Записывают количество гипосульфита, пошедшее на титрование моносахаридов ( $m_1$ ).

Параллельно проводят контрольное титрование. 10 мл фелинговой жидкости переносят в колбу, добавляют 25 мл дистиллированной воды, ставят на плитку и после закипания кипятят ровно 2 мин. Дальнейшее определение проводят вышеописанным способом как для вытяжки моносахаридов. Записывают количество гипосульфита, пошедшего на титрование контроля ( $m_0$ ).

Содержание моносахаридов определяют по формуле (41).

$$C_{\text{моно}} = \frac{a \cdot V \cdot 100}{B \cdot H \cdot 1000}, \quad (41)$$

где  $C_{\text{моно}}$  – содержание моносахаридов, % в сырой массе;

$a$  – содержание глюкозы по табл. 55 ( $m_0 - m_1$ ), мг;

$V$  – общий объем полученного фильтрата из пробы, мл;

$B$  – объем вытяжки, взятой для титрования, мл;

$H$  – навеска, г.

#### **Определение дисахаридов.**

5 мл вытяжки переносят в колбу, добавляют 10 мл 1%-ного раствора  $\text{HCl}$ . Колбу накрывают воронкой, чтобы жидкость не выкипала, ставят на плитку и кипятят в течение 5 мин. Колбу охлаждают под проточной водой, добавляют 10 мл дистиллированной воды, приливают 10 мл фелинговой жидкости из бюретки, ставят на плитку и после закипания кипятят ровно 2 мин.

Дальнейшее определение дисахаридов проводят вышеописанным способом как для вытяжки моносахаридов. Записывают количество гипосульфита, пошедшее на титрование ( $m_2$ ).

Содержание дисахаридов определяют по формуле (42).

$$C_{\text{дис}} = \frac{a \cdot V \cdot 100}{B \cdot H \cdot 1000}, \quad (42)$$

где  $C_{\text{дис}}$  – содержание дисахаридов, % в сырой массе;

$a$  – содержание глюкозы по табл. 55 ( $m_1 - m_2$ ), мг;

$V, B, H$  – показатели в соответствии с формулой (41).

*Определение крахмала.* Навеску растительного материала 2,5 г переносят в колбу и заливают 50 мл 1%-ного раствора  $\text{HCl}$ , выдерживают в течение часа.

Колбу ставят на плитку, закрывают воронкой и кипятят в течение 15 минут, фильтруют. Фильтрат переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят до метки. Полученная вытяжка содержит сумму сахаров; собственно моносахариды, полученные при гидролизе дисахаридов, и моносахариды, полученные при гидролизе крахмала.

5 мл вытяжки переносят в колбу, добавляют 20 мл дистиллированной воды, приливают 10 мл фелинговой жидкости из бюретки, ставят на плитку и после закипания кипятят ровно 2 мин.

Дальнейшее определение крахмала проводят вышеописанным способом как для моносахаридов. Записывают количество гипосульфита, пошедшее на титрование ( $m_3$ ).

Содержание крахмала определяют по формуле (43):

$$C_{\text{кр}} = \frac{a \cdot V \cdot 100}{B \cdot H \cdot 1000}, \quad (43)$$

где  $C_{\text{кр}}$  – содержание крахмала, % в сырой массе;

$a$  – содержание глюкозы по табл. 52 ( $m_2 - m_3$ ), мг;

$V, B, H$  – показатели в соответствии с формулой (41).

Таблица 52. Определение глюкозы по методу Шоорля

Число мл 0,1 н. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Глюкоза, мг	Число мг 0,1 н. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Глюкоза, мг	Число мл 0,1 н. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Глюкоза, мг	Число мл 0,1 н. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Глюкоза, мг
1	3,2	7	22,4	13	42,4	19	63,3
2	6,3	8	25,6	14	45,8	20	66,9
3	9,4	9	28,9	15	48,3	21	70,7
4	12,6	10	32,3	16	52,8	22	74,5
5	15,8	11	35,7	17	56,3	23	78,5
6	19,2	12	39,0	18	59,8	24	82,6

Полученные результаты записывают по форме табл. 53.

Таблица 53. Содержание различных форм углеводов в растениях

Культура	Содержание углеводов, % в сырой массе			
	моносахариды	дисахариды	крахмал	сумма

### Лабораторная работа 43. Влияние ингибиторов роста на покой семян

Глубокий покой семян может быть вызван рядом внутренних факторов: непроницаемостью оболочки для воды и кислорода, недоразвитостью зародыша, накоплением ингибиторов роста, которые могут содержаться как в самих семенах (в оболочке, эндосперме), так и в разросшемся околоплоднике. Именно благодаря наличию ингибиторов семена не прорастают внутри сочных плодов.

**Ход работы.** Берут свежеприготовленный томатный или яблочный сок, измеряют его рН. Готовят раствор серной кислоты с аналогичной величиной рН. Для опыта используют семена томата, льна, салата и др. Берут три чашки Петри, на дно помещают фильтровальную бумагу и смачивают ее в первой чашке водопроводной водой, во второй – томатным или яблочным соком, в третьей – разбавленной серной кислотой. Раскладывают в чашки по 10–15 семян и закрывают крышкой, которую изнутри выстилают смоченной в воде фильтровальной бумагой для создания влажной камеры. Ставят в термостат при температуре 25 °С. Через 2–3 дня подсчитывают количество проросших, непроросших и наклюнувшихся семян.

Затем семена, находящиеся на томатном соке, тщательно промывают, вновь раскладывают на фильтровальную бумагу, смоченную водопроводной водой. Закрывают и ставят на проращивание. Через 2–3 дня наблюдения повторяют. Результаты записывают по форме табл. 54. Делают выводы о тормозящем, а не повреждающем действии сока и о неспецифичности действия ингибиторов роста.

Таблица 54. Влияние ингибиторов роста на покой семян

Вариант опыта	Количество семян, шт.		Количество непроросших	
	всего	проросших и наклюнувшихся	шт.	% от общего числа
1. Вода (контроль)				
2. Сок				
3. Серная кислота				
4. Сок + отмывка водой				

#### Лабораторная работа 44. Определение темпов роста побегов плодовых культур по изменению морфологических показателей

В течение вегетационного периода рост плодовых деревьев выражается в новообразовании побегов, листьев, корней, цветков и плодов. Особенно заметен рост побегов, который характеризуется ярко выраженной периодичностью. Самый мощный рост побегов в длину происходит примерно в середине мая. Вторую волну роста, которая может наступить после краткого периода покоя, обозначают как июньский прирост. Иногда наступает третья короткая волна роста. Это осенний прирост, который наиболее вероятен после летних засух, сменяемых сильными дождями.

**Ход работы.** Выбирают по пять типичных для варианта однолетних побегов плодовых культур и с интервалом 7–10 суток измеряют их длину. Результаты записывают по форме табл. 55.

Таблица 55. Динамика длины побега

Вариант опыта	Повторность	Длина побега, см		Прирост побега, см/сут
		1-й учет	2-й учет	

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Дуктова, Н. А. Учебная практика по физиологии и биохимии растений: программа и методические указания / Н. А. Дуктова, А. И. Мыхлык, В. П. Моисеев. – Горки: БГСХА, 2018. – 56 с.
2. Летние практические занятия по физиологии растений. Полевая практика: пособие для студентов педагогических вузов / под ред. М. С. Миллер. – Москва: Просвещение, 1973. – 208 с.
3. Моисеев, В. П. Физиология и биохимия растений: практикум / В. П. Моисеев. – Горки: БГСХА, 2017. – 180 с.
4. Практикум по физиологии растений / Н. Н. Третьяков [и др.]; под ред. Н. Н. Третьякова. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – Москва: Колос, 1982. – 271 с.
5. Тарасенко, С. А. Физиология и биохимия растений. Лабораторный практикум: учеб. пособие / С. А. Тарасенко, Е. И. Дорошкевич. – Минск: ИВЦ Минфина, 2017. – 196 с.
6. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений: учеб. пособие / Н. Н. Третьяков [и др.]; под ред. Н. Н. Третьякова. – Изд. 2-е. – Москва: Колос, 2005. – 656 с.
7. Плешков, Б.П. Практикум по биохимии растений / Б. П. Плешков. – Москва: Колос, 1985. – 256 с.
8. Викторов, Д. П. Малый практикум по физиологии растений / Д. П. Викторов. – Москва: Высш. шк., 1969. – 120 с.

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА</b> .....	3
<b>ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	4
<b>ПРАВИЛА РАБОТЫ В ЛАБОРАТОРИИ</b> .....	5
<b>1. ОБЩАЯ ЧАСТЬ</b> .....	14
Лабораторная работа 1. Изучение роста и развития растений с использованием метода почвенной культуры.....	14
Лабораторная работа 2. Определение общей и рабочей адсорбирующей поверхности корней методом Сабина и Колосова .....	20
Лабораторная работа 3. Проведение фенологических наблюдений .....	23
Лабораторная работа 4. Проведение морфометрических наблюдений .....	29
Лабораторная работа 5. Определение биологической и хозяйственной урожайности сельскохозяйственных растений.....	31
Лабораторная работа 6. Определение динамики накопления биомассы растений.....	33
Лабораторная работа 7. Определение чистой продуктивности фотосинтеза и фотосинтетического потенциала посева .....	35
Лабораторная работа 8. Определение индекса листовой поверхности и фотосинтетического потенциала посева .....	39
Лабораторная работа 9. Количественное определение содержания хлорофиллов и каротиноидов .....	40
Лабораторная работа 10. Определение водоудерживающей способности растений.....	44
Лабораторная работа 11. Визуальная диагностика минерального питания растений.....	45
Лабораторная работа 12. Методика определения изреженности посевов.....	47
Лабораторная работа 13. Влияние на растение различных концентраций ростовых веществ .....	50
Лабораторная работа 14. Влияние предпосевной обработки на прорастание семян.....	51
<b>2. СПЕЦИАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b> .....	53
<b>2.1. Зерновые и зернобобовые культуры</b> .....	53
Лабораторная работа 15. Определение состояния озимых зерновых культур по отрастанию в воде.....	53
Лабораторная работа 16. Определение жизнеспособности озимых зерновых культур окрашиванием тканей.....	54
Лабораторная работа 17. Определение степени закаливания озимых зерновых культур.....	54
Лабораторная работа 18. Определение вклада листьев разных ярусов зерновых культур в формирование элементов продуктивности .....	55
Лабораторная работа 19. Выявление апикального доминирования у гороха ...	56
Лабораторная работа 20. Определение содержания суммарных белков в зерне спектрофотометрическим методом .....	57
Лабораторная работа 21. Обнаружение алкалоидов в растительном материале.....	58
Лабораторная работа 22. Влияние гетероауксина на укоренение черенков фасоли.....	59
Лабораторная работа 23. Определение содержания клетчатки.....	60

<b>2.2. Картофель и корнеплоды</b> .....	61
Лабораторная работа 24. Прерывание периода покоя у клубней картофеля с помощью тиомочевины .....	61
Лабораторная работа 25. Определение содержания крахмала поляриметрическим методом .....	62
Лабораторная работа 26. Определение содержания крахмала с помощью поляриметра .....	64
Лабораторная работа 27. Определение запасного крахмала в семенах (по Починку) .....	67
Лабораторная работа 28. Определение содержания каротина .....	70
<b>2.3. Масличные культуры</b> .....	71
Лабораторная работа 29. Определение содержания масла в семенах с помощью рефрактометра (по А. И. Ермакову) .....	71
Лабораторная работа 30. Быстрый рефрактометрический метод определения йодного числа масел .....	72
Лабораторная работа 31. Определение содержания жиров рефрактометрическим методом .....	74
Лабораторная работа 32. Обнаружение углеводов при прорастании семян масличных культур .....	76
Лабораторная работа 33. Определение кислотного числа растительных масел .....	77
Лабораторная работа 34. Определение содержания эруковой кислоты в маслах рапса, сурепицы и белой горчицы .....	78
<b>2.4. Плодово-ягодные и овощные культуры</b> .....	78
Лабораторная работа 35. Определение содержания дубильных веществ .....	78
Лабораторная работа 36. Колориметрический метод определения сахаров .....	79
Лабораторная работа 37. Определение потребности растений в удобрениях методом листовой и тканевой диагностики (по В. В. Церлинг) .....	81
Лабораторная работа 38. Определение содержания нитратов в растениях .....	84
Лабораторная работа 39. Определение содержания органических кислот .....	85
Лабораторная работа 40. Определение суммы органических кислот .....	87
Лабораторная работа 41. Определение глубины покоя почек древесных растений .....	88
Лабораторная работа 42. Количественное определение содержания углеводов методом Шоорля .....	89
Лабораторная работа 43. Влияние ингибиторов роста на покой семян .....	92
Лабораторная работа 44. Определение темпов роста побегов плодовых культур по изменению морфологических показателей .....	93
<b>БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК</b> .....	94