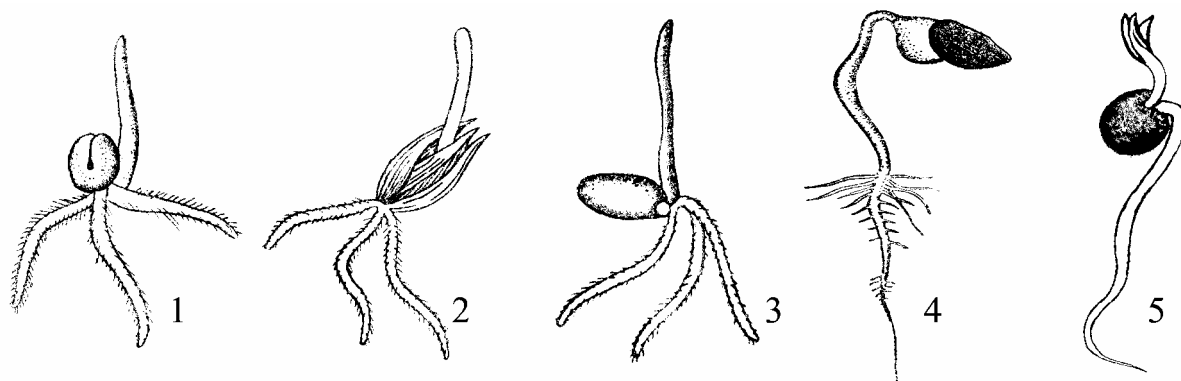


ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ: вегетационные опыты



Министерство образования Российской Федерации
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова
Кафедра ботаники и микробиологии

**ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ
ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ:
вегетационные опыты**

Методические указания

Ярославль 2003

ББК Е 573
Э 40
УДК 570 : 581

Составители: **О.А. Маракаев, О.В. Титова**

Экологическая физиология растений: вегетационные опыты:
Метод. указания / Сост. О.А. Маракаев, О.В. Титова; Яросл. гос. ун-т.
Ярославль, 2003. 55 с.

Приведены программа и содержание летней практики по вегетационным методам экологической физиологии растений. Рассмотрены методики физиологических исследований растений в лабораторных и природных условиях. Указаны темы рефератов для более углубленного изучения литературы по регуляции и интеграции физиологических процессов в растительных системах различного уровня сложности с учетом онтогенеза и адаптации. Дана библиография для освоения теории и методики вегетационных опытов при организации эколого-физиологических исследований.

Рис. 8. Табл. 21. Библиогр. 50.

Рецензент: кафедра ботаники и микробиологии Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова

© Ярославский государственный университет, 2003
© О.А. Маракаев, О.В. Титова, 2003

Исследования физиологических реакций растений в течение сезонного развития с учетом изменения экологических факторов требуют проведения вегетационных опытов. Контролируемое выращивание растений в моделируемых условиях позволяет успешно решать важнейшие физиологические вопросы, связанные с выяснением особенностей фотосинтеза, дыхания, минерального питания, водного режима, роста и др. Наиболее распространенными при постановке вегетационных опытов являются водные, песчаные и почвенные культуры, а также полевой эксперимент. Выбор способа культивирования растений зависит от целей эколого-физиологических исследований.

Задачами настоящего практикума являются иллюстрация теоретического курса, расширение и углубление знаний по физиологии растений, демонстрация их значимости в проведении природоохранной работы, сохранении и повышении продуктивности растений в фитоценозах. Постановка опытов, которые возможно полностью выполнить лишь в условиях летнего лабораторного практикума. Освоение навыков исследовательской работы, выполняемой непосредственно в естественной среде обитания растений, условиях промышленного города, а также при организации вегетационных опытов в лаборатории. Знакомство с методами функциональной диагностики растений при действии экологических и антропогенных факторов. Освоение методов полевых исследований для разработки мероприятий по улучшению физиологического состояния растений с целью регуляции их продуктивности. Ознакомление с основными физиологическими функциями растительного организма в природных условиях.

Программа практикума в основном посвящена изучению влияния факторов внешней среды, в том числе антропогенного промышленного загрязнения, условий выращивания культурных растений на процессы роста и развития, водный обмен, фотосинтетическую продуктивность; освоению методики постановки вегетационных опытов с водными и песчаными культурами, организации полевого эксперимента; ознакомлению с методами статистической обработки результатов исследований по экологической фитофизиологии.

Результаты исследований физиологических реакций растений при проведении вегетационных опытов студенты оформляют в дневнике практики. В нем они отмечают темы работ, цели исследований, рисуют схемы проведения экспериментов, обозначают объекты ис-

следований с указанием латинских названий. Практические результаты представляют в виде таблиц, графиков и рисунков. На основе собственных экспериментальных данных студенты делают выводы, являющиеся одним из важнейших элементов выполненной работы. В выводах приводят теоретическое обоснование и объяснение полученных результатов, оценивают их статистическую достоверность. Каждая выполненная работа должна представлять собой небольшое законченное исследование.

Важнейшей составляющей практикума является самостоятельная работа студентов, связанная с подготовкой реферата по фундаментальным и прикладным проблемам физиологии растений. Реферат должен освещать новые и перспективные направления исследований, проводимых в области экологической фитофизиологии. С этой целью в методических указаниях дана тематика рефератов и основная рекомендуемая к ним литература. Выполняя рефераты и делая по ним сообщения, студенты должны продемонстрировать умение анализировать и систематизировать данные литературы.

На заключительном занятии проводится собеседование по исследовательской работе, выполненной в рамках летней практики по вегетационным методам экологической физиологии растений. Вопросы для обсуждения и основная литература к ним приводятся в настоящих методических указаниях. При собеседовании студенты должны уметь сопоставить имеющиеся теоретические данные с собственными экспериментальными результатами.

Программа и содержание практических работ по экологической физиологии растений

Тема 1. Постановка вегетационных опытов

Вегетационные опыты осуществляются в лабораторных условиях при постановке водных, песчаных или почвенных культур, позволяющих изолировать влияние отдельных внешних факторов, но помещающих растения в искусственную обстановку. Вегетационные опыты могут проводиться также в природных условиях при органи-

зации полевых исследований, затрудняющих контроль над факторами среды, но в большей степени отвечающих естественным условиям произрастания растений. Сочетание этих методов способствует выяснению наиболее полной картины физиологической реакции растений при изменении условий окружающей среды.

Работа 1. Водная культура

Цель работы: освоить методику проведения опытов в водной культуре.

Объекты исследований: проростки двудольных и однодольных растений.

Материалы и оборудование: сосуды для водной культуры, химические стаканы на 1 000, 500, 100 и 10 мл, мерные колбы на 1 л, чашки Петри, водяная баня, ножницы, пинцет, кисточка, маркер, черная и белая бумага, марля, нитки, фильтровальная бумага, стеклянные и деревянные палочки, парафин, резиновая груша, концентрированные растворы минеральных солей $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaSO_4 , KH_2PO_4 , NaH_2PO_4 , MgSO_4 , KCl , Fe_2Cl_6 , NaCl , растворы NaOH и HCl , лимонная кислота, индикаторная лакмусовая бумага.

Водная культура - выращивание растений в водном растворе минеральных солей. Постановка водных культур необходима при изучении особенностей минерального питания, выявлении физиологической роли отдельных элементов, эффективных форм удобрений в целях сознательного управления обменом веществ и повышения продуктивности растений. Водная культура позволяет в лабораторных условиях обеспечить различное минеральное питание растений и наблюдать картину изменения важнейших физиологических параметров в течение вегетационного опыта.

Ход работы

Постановку опытов осуществляют по схеме, приведенной в табл. 1.

Монтировка сосудов. Для стеклянных сосудов изготавливают из марли крышки. Куски марли нужного размера опускают в расплавленный на водяной бане парафин и сразу же натягивают на отверстие сосуда. После застывания парафина в крышке с помощью деревянной

палочки делают 10 отверстий на равных расстояниях друг от друга (рис. 1).

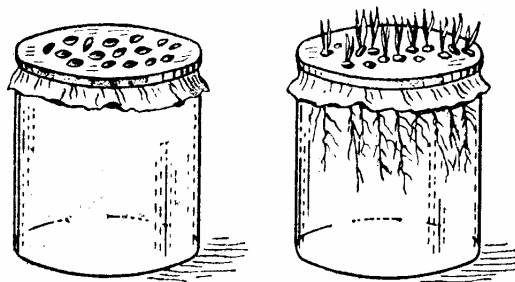


Рис. 1. Сосуды для выращивания растений в водной культуре

Приготовление питательных смесей. Питательные растворы готовят на основе смеси Кнопа с добавлением микроэлементов – бора и марганца (табл. 1). Бор вносят в виде борной кислоты H_3BO_3 или буры $Na_2B_4O_7$ (0,5 мг бора на 1 л); марганец – в виде $MnSO_4$ (0,4 мг марганца на 1 л). Минеральные соли точно взвешивают и растворяют в мерной колбе на 1 л в половинном объеме воды. Во избежание осадка вначале растворяют $Ca(NO_3)_2$, а затем $MgSO_4$ и другие соли, последним вносят железо. Раствор тщательно перемешивают стеклянной палочкой и доводят его объем до 1 л. Можно готовить смеси из концентрированных растворов солей. В этом случае берут по 10 мл каждого раствора и последовательно растворяют в 1 л воды. Затем определяют pH питательного раствора с помощью индикаторной лакмусовой бумаги. Для большинства культур pH устанавливают – 5,5 - 6,5. Подкисление и подщелачивание смеси проводят при помощи растворов едкого натра, соляной или лимонной кислот. Приготовленные питательные смеси и воду наливают в стеклянные сосуды.

Посадка растений. В каждый сосуд высаживают 10 одинаковых по внешнему виду небольших проростков. Их помещают при помощи пинцета и кисточки в отверстия марлевой крышки снизу. При этом следят, чтобы корешки проростков не травмировались и доходили до поверхности растворов. Повторность в опытах с водной культурой должна быть трехкратной. Сосуды оборачивают черной бумагой, чтобы свет не замедлял рост корней, а сверху – белой бумагой для отражения света. Сосуды с посаженными проростками ставят на рассеянный свет и обеспечивают за ними тщательный уход.

Таблица 1

Схема постановки опытов с разными объектами

№ п/п	Вариант (г/л)	Число сосудов
1	Полная питательная смесь Кнопа: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - 1$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 0,25$; $\text{MgSO}_4 - 0,25$; $\text{KCl} - 0,125$; $\text{Fe}_2\text{Cl}_6 - 5$ капель 1%-ного раствора.	3
2	Смесь с исключением азота: $\text{CaSO}_4 - 1,03$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 0,25$; $\text{MgSO}_4 - 0,25$; $\text{KCl} - 0,125$; $\text{Fe}_2\text{Cl}_6 - 5$ капель 1%-ного раствора.	3
3	Смесь с исключением калия: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - 1$; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - 0,25$; $\text{MgSO}_4 - 0,25$; $\text{NaCl} - 0,09$; $\text{Fe}_2\text{Cl}_6 - 5$ капель 1%-ного раствора.	3
4	Смесь с исключением фосфора: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - 1$; $\text{KCl} - 0,255$; $\text{MgSO}_4 - 0,25$; $\text{Fe}_2\text{Cl}_6 - 5$ капель 1%-ного раствора.	3
5	Вода без прибавления минеральных солей.	3

Уход за водной культурой. Ежедневно в течение вегетационного опыта поддерживают одинаковый уровень питательных растворов и воды в сосудах. Продувают растворы с использованием резиновой груши в течение 3 - 5 минут, что способствует повышению содержания кислорода и перемешиванию во избежание оседания на корнях выпавших в осадок солей. Этих же результатов достигают перемешиванием питательных растворов стеклянной палочкой или переливанием их в другой сосуд, при этом неоднократно энергично встряхивают раствор. Для лучшего доступа к корням растений кислорода корневую систему погружают в раствор не более чем на две трети. Регулярно следят за рН питательных растворов, не допуская изменения показателя. Содержат растения в чистоте, опрыскивают их водой из пульверизатора.

Ликвидация опытов. В течение вегетационного опыта и по его окончании у растений различных вариантов определяют необходимые физиологические параметры. Получают данные для растений из трех сосудов. Рассчитывают средние арифметические значения для вариантов и их ошибки. Результаты оформляют в таблицах. К отчету прилагают рисунок, иллюстрирующий методику постановки опытов с водными культурами.

Работа 2. Песчаная культура

Цель работы: освоить методику проведения опытов в песчаной культуре.

Объекты исследований: проростки двудольных и однодольных растений.

Материалы и оборудование: сосуды для песчаной культуры, кварцевый песок, гравий, цилиндры для определения влагоемкости, химические стаканы на 1000, 500, 100 и 10 мл, мерные колбы на 1 л, чашки Петри, весы с разновесами, ножницы, пинцет, маркер, марля, фильтровальная бумага, стеклянные трубки, стеклянные и деревянные палочки, картон, концентрированные растворы минеральных солей $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaSO_4 , KH_2PO_4 , NaH_2PO_4 , MgSO_4 , KCl , Fe_2Cl_6 , NaCl , растворы NaOH и HCl , лимонная кислота, индикаторная лакмусовая бумага.

Песчаная культура - выращивание растений в песке при добавлении необходимых элементов минерального питания. При постановке песчаной культуры растения помещают в искусственные условия, что позволяет контролировать содержание воды и минеральных веществ в субстрате, уровень и продолжительность освещенности, температуру и другие факторы среды. Этот метод имеет важное теоретическое значение при изучении процессов поглощения, накопления и распределения минеральных элементов, а также практическое при разработке приемов оптимизации минерального питания, управления процессами роста и развития растений.

Ход работы

Постановку опытов осуществляют по схеме, приведенной в табл. 1.

Монтировка сосудов. На дно стеклянного сосуда укладывают дренаж в виде промытого гравия, который распределяют горкой с одного края. Дренаж должен покрывать не менее $\frac{2}{3}$ дна сосуда под углом 30° . При помощи дренажа все сосуды доводят до одинаковой массы. В гравий вставляют стеклянную трубку диаметром 1,5 – 2 см. Дренаж покрывают марлей и наполняют сосуд песком.

Подготовка песка. При постановке песчаных культур используют крупный кварцевый песок с диаметром частиц 0,5 - 0,7 мм. Если

песок содержит органические примеси, их предварительно отмучивают водой. Затем песок сушат и просеивают через сито.

Определяют полную влагоемкость песка с помощью специального цилиндра с сетчатым дном (рис. 2). На дно цилиндра помещают смоченный водой кружок фильтровальной бумаги. Цилиндр взвешивают и наполняют песком доверху. Сверху также помещают кружок фильтровальной бумаги. Цилиндр с песком снова взвешивают и ставят в сосуд с водой. Высота слоя воды в сосуде должна быть на 2 см выше дна цилиндра. Когда песок пропитается доверху водой, что будет заметно по смачиванию фильтровальной бумаги на поверхности песка, цилиндр вынимают из сосуда, дают стечь лишней воде, вытирают и взвешивают. Влагоемкость (А) вычисляют по формуле:

$$A = \frac{c - b}{b - a} \cdot 100 \text{ г (или \%)},$$

где а - масса пустого цилиндра (г); b - масса цилиндра с песком до погружения его в воду (г); с - масса цилиндра с песком после насыщения его водой (г).

Влажность песка в сосудах во время вегетационных опытов следует поддерживать на уровне 60% от полной влагоемкости. Если А г воды необходимо для увлажнения песка до полной влагоемкости, то В г воды потребуется для увлажнения его до 60% от полной влагоемкости:

$$\begin{aligned} A \text{ г} - 100\%, \\ B \text{ г} - 60\%; \end{aligned} \quad B = \frac{A \cdot 60}{100} \text{ г.}$$

Для расчета поливной массы сосуда, которая должна поддерживаться ежедневным поливом, определяют массу сухого песка в нем (C_1). Учитывая, что для поддержания 60% влагоемкости на каждые 100 г сухого песка должно приходиться В г воды, рассчитывают массу воды на сухой песок в сосуде (C_2). Зная массу сосуда с дренажем (C_3), рассчитывают поливную массу сосуда: $C = C_1 + C_2 + C_3$.

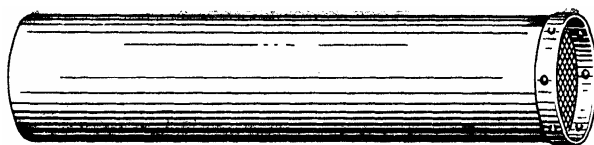


Рис. 2. Цилиндр для определения влагоемкости

Приготовление питательных смесей. В опытах используют указанные выше варианты питательных смесей (табл. 1).

Посадка растений. В каждый сосуд высаживают 10 одинаковых по внешнему виду небольших проростков. Посадку проводят равномерно и на определенную глубину. Для размещения проростков используют картонный шаблон с отверстиями, выполненный по диаметру сосуда. Для посадки на определенную глубину служит деревянная палочка, оканчивающаяся суженной частью, длина которой равна необходимой глубине посадки, а диаметр немного меньше отверстия в шаблоне. Положив шаблон на поверхность песка в сосуде, палочкой делают углубления. Шаблон снимают, пинцетом раскладывают в углубления проростки и присыпают их корни песком. Посадку проводят в один день. Повторность в опытах с песчаной культурой должна быть трехкратной. Сосуды с посаженными проростками ставят на рассеянный свет и обеспечивают за ними тщательный уход.

Уход за песчаной культурой. В течение вегетационного опыта поддерживают влажность песка в сосудах на уровне 60% от полной влагоемкости. При поливе по массе на одну чашку весов помещают сосуд с растениями, на другую - разновесы, соответствующие поливной массе (С), и приливают в сосуд питательный раствор или воду до равновесия весов. Полив по массе можно заменить поливом по объему, определив потерю в массе за сутки у 1 - 2 сосудов, в остальные сосуды приливают такое же количество воды по объему. В жаркие дни полив необходимо проводить два раза в день: утром - по объему, вечером - по массе. Растения на протяжении всего эксперимента содержат в чистоте, опрыскивают их водой из пульверизатора.

Ликвидация опытов. В течение вегетационного опыта и по его окончании у растений различных вариантов определяют необходимые физиологические параметры. Получают данные для растений из трех сосудов. Рассчитывают средние арифметические значения для вариантов и их ошибки. Результаты оформляют в таблицах. К отчету прилагают рисунок, иллюстрирующий методику постановки опытов с песчаными культурами.

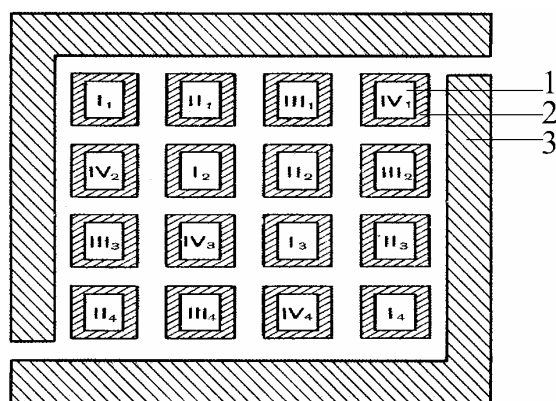
Работа 3. Полевой метод

Цель работы: познакомиться с методикой проведения опытов в полевых условиях.

Объекты исследований: двудольные и однодольные растения на разных фазах развития.

Материалы и оборудование: карандаш, калька, фильтровальная бумага, копалка, полиэтиленовый пакет.

Проведение вегетационных опытов в полевых условиях связано с выращиванием растений в наиболее естественных условиях по сравнению с водной и песчаной культурами. Полевой метод включает следующие основные этапы: выбор участка, его разделение на делянки, обработку почвы, внесение удобрений, выбор растений, посев семян, наблюдения за опытными растениями, уборку урожая. Полевой метод позволяет определить почвенное плодородие в отношении необходимых элементов питания; выявить норму, форму и сроки внесения минеральных и органических удобрений; установить лучшие сроки посева различных культур, определяющие темпы развития растений; выяснить оптимальные способы агротехники. Выращивание растений в разных вариантах опыта позволяет определить важнейшие параметры их жизнедеятельности в динамике развития. Полевой метод необходим также при изучении физиологических особенностей растений во взаимосвязи с условиями окружающей среды.



*Рис. 3. Примерный план опытного участка:
1 - опытная делянка; 2 - защитная полоса делянки;
3 - защитная полоса участка*

Ход работы

Проводится экскурсия на участок с заложенным полевым опытом. При этом в дневнике практики описывают: местонахождение участка; план делянок, их размер и форму; варианты и номера повторностей делянок (рис. 3). Отмечают также состав, степень обработки и увлажнение почвы; предшествующую культуру; количество, форму и сроки внесения удобрений; виды и сорта культур; время и густоту посева; фазы развития растений; засоренность посевов сорняками. Согласно

схеме проведения полевого эксперимента, проводят отбор проб растительного материала для последующих физиологических исследований. Не менее пяти растений каждого варианта аккуратно с помощью копалки извлекают из почвы. Их корни тщательно отмывают, сохраняя при этом мельчайшие корневые ответвления. Растения каждого варианта снабжают этикеткой из кальки, указывая на ней вид и сорт культуры, номер пробы, дату отбора материала. После этого растения оборачивают в фильтровальную бумагу и увлажняют. В таком виде растительные пробы доставляют в лабораторию.

Вопросы для обсуждения

1. Вегетационный опыт как инструмент эколого-физиологических исследований. Задачи и перспективы.
2. Особенности водной культуры. Методика постановки и проведения.
3. Типы питательных смесей. Принцип их составления в зависимости от задач исследования.
4. Особенности песчаной культуры. Методика постановки и проведения.
5. Особенности организации вегетационных опытов в полевых условиях.
6. Изучение влияния факторов внешней среды на процессы жизнедеятельности растений в условиях вегетационных опытов.
7. Оценка эффективности приемов агротехники и качества продукции растениеводства при проведении вегетационных опытов.
8. Использование вегетационных опытов в целях оптимизации процессов роста и развития растений.

Рекомендуемая литература

1. Большой практикум по физиологии растений. Минеральное питание. Физиология клетки. Рост и развитие / Под ред. Б.А. Рубина. М.: Высшая школа, 1978. 408 с.
2. Летние практические занятия по физиологии растений. Полевая практика / Под ред. М.С. Миллера. М.: Просвещение, 1973. 208 с.
3. Викторов Д.П. Практикум по физиологии растений. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1991. 160 с.
4. Практикум по физиологии растений / Под ред. В.Б. Иванова. М.: Академия, 2001. 144 с.
5. Практикум по физиологии растений / Под ред. Н.Н. Третьякова. М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.

Тема 2. Минеральное питание

Условия минерального питания оказывают влияние на фотосинтез, дыхание, поглощение макро- и микроэлементов, ионный состав тканей, рост надземных органов и корней. При этом первостепенное значение для жизнедеятельности растений имеют реакция почвенного раствора, содержание и доступность отдельных элементов минерального питания, органических веществ почвы. Изучение зависимостей между потоком питательных веществ и комплексом почвенных факторов является важнейшим разделом физиологии минерального питания. Потребности растений в необходимых минеральных элементах можно установить при выращивании их на искусственных питательных средах в условиях водной и песчаной культуры.

Работа 4. Влияние отдельных элементов питательной смеси на рост надземных органов и корней

Цель работы: оценить физиологическое значение отдельных элементов минерального питания по ростовым параметрам.

Объекты исследований: двудольные и однодольные растения.

Материалы и оборудование: пинцет, миллиметровая и фильтровальная бумага, маркер, стекло.

Исключение любого из макро- и микроэлементов приводит к угнетению темпов роста растений, нарушению формообразования, уменьшению размеров органов. Дальнейшие нарушения обмена веществ могут вызывать необратимые последствия - гибель отдельных органов и в последующем – всего растения. Наиболее быстро на процессах роста сказывается исключение азота, калия и фосфора из-за высокой потребности в них молодых по возрасту растений.

Ход работы

Ростовые параметры определяют в начале (l_1) и по окончании (l_2) опытов в условиях водной и песчаной культуры. Измерение длины листьев и корней у каждого растения из трех сосудов проводят при помощи миллиметровой бумаги, которую помещают под стекло. Рядом на влажной фильтровальной бумаге размещают используемые в опытах растения. Все измерения проводят с предельной точностью и

аккуратностью, не допуская травмирования и подсыхания растений. Получают данные для растений каждого варианта опыта. Вначале вычисляют среднюю величину показателя для одного растения в сосуде, а затем - среднее значение для варианта опыта. Делают заключение о точности и достоверности разности вариантов проведенного эксперимента. Вычисляют прирост длины органов растений за время вегетационного опыта ($l_2 - l_1$).

Таблица 2

Объект	Вариант опыта	Повторность	Длина листьев, см		Прирост		Длина корней, см		Прирост	
			l_1	l_2	см	%	l_1	l_2	см	%

Результаты работы оформляют в виде табл. 2 и графиков, отражающих динамику роста растений в зависимости от условий минерального питания. В выводе показывают влияние отдельных элементов минерального питания на рост надземных органов и корней у растений разных видов.

Работа 5. Влияние условий минерального питания на накопление массы сырого и сухого вещества

Цель работы: выявить особенности накопления сырой и сухой массы у растений, культивируемых на разном фоне минерального питания.

Объекты исследований: двудольные и однодольные растения.

Материалы и оборудование: весы с разновесами, бюксы, ножницы, пинцет, маркер, фильтровальная бумага, сушильный шкаф.

Баланс минеральных веществ обуславливает процессы роста и распределения массы в системе целого растения. Уровень сырой массы позволяет судить о степени оводненности растительных тканей. Накопление сухого вещества свидетельствует о продуктивности фотосинтеза и эффективности дыхания. Изменения сырой и сухой массы разных органов служат интегральными характеристиками динамики роста растений при проведении опытов по минеральному питанию.

Ход работы

Содержание массы сырого и сухого вещества в разных органах растений определяют в начале (m_1) и по окончании (m_2) опытов в условиях водной и песчаной культуры. Для этого в первый бюкс с известной массой помещают листья растений, во второй – их корни. Бюксы с растительным материалом взвешивают и ставят в сушильный шкаф. Высушивание осуществляют до воздушно-сухого состояния при температуре 100 - 105°C. Бюксы с высушенным растительным материалом взвешивают и вновь ставят в сушильный шкаф на 2 часа. Если после повторного взвешивания масса не изменилась, полученную величину принимают за абсолютно сухую массу. Определение сырой и сухой массы проводят для растений из трех сосудов каждого варианта вегетационных опытов. Вначале вычисляют среднюю величину показателя для одного растения в сосуде, а затем – среднее значение для варианта опыта. Делают заключение о точности и достоверности разности вариантов проведенного эксперимента. Вычисляют прирост массы сырого и сухого вещества в органах растений за время вегетационного опыта ($m_2 - m_1$). Рассчитывают отношение массы надземных органов к массе корней. Отмечают внешний вид растений в разных вариантах опытов: окраску листьев, характер повреждений.

Таблица 3

Объект	Вариант опыта	Повторность	Сырая масса, г							
			листья		прирост		корни		прирост	
			m_1	m_2	г	%	m_1	m_2	г	%

Таблица 4

Объект	Вариант опыта	Повторность	Сухая масса, г							
			листья		прирост		корни		прирост	
			m_1	m_2	г	%	m_1	m_2	г	%

Таблица 5

Объект	Вариант опыта	Отношение массы надземных органов к массе корней	Окраска листьев, характер повреждений

Результаты работы оформляют в виде таблиц 3, 4, 5 и графиков, характеризующих накопление массы сырого и сухого вещества в разных органах растений в зависимости от условий минерального питания. Выполняют рисунки, отражающие признаки голодания растений по элементам питания. В выводе показывают влияние отдельных минеральных элементов на накопление сырой и сухой массы, отмечают картину повреждений у разных видов растений.

Работа 6. Определение содержания зольных элементов в разных органах растений

Цель работы: установить уровень содержания золы в надземных органах и корнях растений в разных условиях минерального питания.

Объекты исследований: двудольные и однодольные растения.

Материалы и оборудование: тигли, прокаленные и охлажденные в эксикаторе, тигельные щипцы, спиртовка, ступка, весы с разновесами, муфельная печь, эксикатор, скальпель, препаровальные иглы, этиловый спирт, 10%-ный раствор NH_4NO_3 в капельнице, электроплитка, спички.

При сжигании растительного материала углерод, азот и водород улетучиваются в виде углекислого газа, воды и молекулярного азота. Остающийся после сжигания нелетучий остаток содержит элементы, называемые зольными. Содержание зольных элементов в разных растениях и в разных органах одного и того же растения неодинаково. Их уровень зависит от физиологических особенностей и возраста растения, а также комплекса экологических факторов и, прежде всего, условий минерального питания.

Ход работы

Растительный материал измельчают, растирают в ступке, помещают в предварительно прокаленный тигель с известной массой и взвешивают с точностью до 0,01 г. Навеска должна составлять 0,5 – 1 г. Дальнейшие операции по сжиганию растительного материала проводят под тягой. В тигель добавляют 1 - 2 мл спирта и поджигают. После прекращения горения повторяют эту операцию еще раз. Закачивают озоление в муфельной печи. Полноту сжигания проверяют по отсутствию в золе несгоревших частиц и угля. Перемешивают золу двумя препаровальными иглами или кусочками проволоки. Если по-

сле продолжительного прокаливания не происходит полного сгорания, тигель охлаждают, добавляют несколько капель спирта и перемешивают препаративными иглами. После испарения спирта вносят несколько капель 10%-ного раствора NH_4NO_3 , осторожно нагревают на электроплитке до выпаривания воды. Продолжают прокаливание при высокой температуре в муфельной печи. Нитрат аммония при нагревании полностью разлагается до газообразных продуктов, освобождающийся при этом кислород усиливает озоление.

Таблица 6

Объект	Вариант опыта	Орган	Повторность	Масса, г		Содержание золы, %
				сырого материала	золы	

По окончании озоления тигли переносят в эксикатор, закрывают их крышками, чтобы движение воздуха не вызывало выдувания золы. После полного охлаждения тигли взвешивают и рассчитывают содержание золы в исследуемом материале по формуле:

$$x = \frac{a}{b} \cdot 100\%,$$

где x – содержание золы (%), a – масса золы (г), b – масса сырого материала (г).

Определение содержания золы в разных органах растений для каждого варианта опыта проводят в трехкратной повторности. Полученные данные обрабатывают статистически. Результаты работы представляют в виде табл. 6 и графически. В выводе объясняют причины неодинакового содержания зольных элементов в различных органах одного и того же растения и в одноименных органах разных растений в зависимости от условий минерального питания.

Вопросы для обсуждения

1. Изучение минерального питания растений в лабораторных условиях при постановке водной и песчаной культуры.
2. Принцип организации опытов по минеральному питанию растений в полевых условиях.
3. Выявление физиологической роли элементов минерального питания при проведении вегетационных опытов.

4. Использование морфо-физиологических параметров в целях оценки функционального состояния растений в разных условиях минерального питания.

5. Особенности процессов поступления, накопления и распределения минеральных элементов у разных видов растений в зависимости от условий внешней среды.

6. Нарушения в метаболизме растений при недостатке макро- и микроэлементов.

7. Связь процессов минерального питания с водным режимом, дыханием и фотосинтезом. Их интеграция и взаиморегуляция на уровне клетки, органа и целого растения.

8. Минеральное питание растений и моделирование продукционного процесса.

Рекомендуемая литература

1. Маркарова Е.Н. Физиология корневого питания растений. М.: Изд-во МГУ, 1989. 103 с.

2. Азотное питание и продуктивность растений / Под ред. Н.Н. Тищенко. Л.: Изд-во ЛГУ, 1988. 188 с.

3. Измайлов С.Ф. Азотный обмен в растениях. М.: Наука, 1986. 320 с.

4. Кабанов Ф.И. Микроэлементы и растения. М.: Просвещение, 1977. 136 с.

5. Соловьев Г.А. Агрохимические условия питания растений и биосинтез витаминов. М.: Изд-во МГУ, 1985. 104 с.

6. Растения в экстремальных условиях минерального питания / Под ред. М.Я. Школьника. Л.: Наука, 1983. 177 с.

Тема 3. Рост и развитие

Рост и развитие как интегральные процессы наиболее подвержены влиянию факторов внешней среды. Жизнедеятельность растений на разных этапах онтогенеза зависит от интенсивности и спектрального состава света, продолжительности дня и ночи, температуры и влажности, почвенных факторов, газового состава воздуха, антропогенных воздействий. Реакция процессов роста в ответ на действие экологических факторов связана, прежде всего, с функциональной активностью ферментной и гормональной систем и во многом обусловлена возрастным состоянием растения. Рост и развитие - главные физиологические процессы, определяющие структуру, величину и качество продукции растениеводства. Проведение вегетационных опытов позволяет исследовать особенности роста в течение всего сезонного развития растений.

Работа 7. Влияние pH среды на энергию прорастания и всхожесть семян

Цель работы: освоить методы определения посевных качеств семян, определить их способность к прорастанию при разной pH среды.

Объекты исследований: семена двудольных и однодольных растений.

Материалы и оборудование: мерные цилиндры на 25 мл, чашки Петри, кюветы, стекло, кварцевый песок, ножницы, пинцет, линейка, карандаш, маркер, марля, фильтровальная бумага, индикаторная лакмусовая бумага, деревянные палочки, растворы с pH - 5, 7 и 9, 10%-ный этиловый спирт, перманганат калия, термостат.

При постановке вегетационных опытов необходима предварительная оценка посевных качеств семян - всхожести и энергии прорастания. Под всхожестью понимают количество нормально проросших семян в пробе, взятой для анализа, выраженное в процентах. Всхожесть определяют путем проращивания семян при оптимальных условиях в течение семи суток. Одновременно со всхожестью отмечают энергию прорастания семян, характеризуемую процентом проросших семян на третьи сутки.

Ход работы

Семена дезинфицируют в 10%-ном растворе этилового спирта или в растворе перманганата калия розового цвета в течение 15 минут и подвергают действию растворов с рН - 5, 7 и 9 в чашках Петри, кюветах на стекле, рулонах и песчаной культуре. Опыты проводят в трехкратной повторности по 25 семян в каждой. К числу всхожих относят семена, имеющие нормально развитые корешки или один главный корешок размером не менее длины семени (рис. 4). Результаты оформляют в табл. 7.

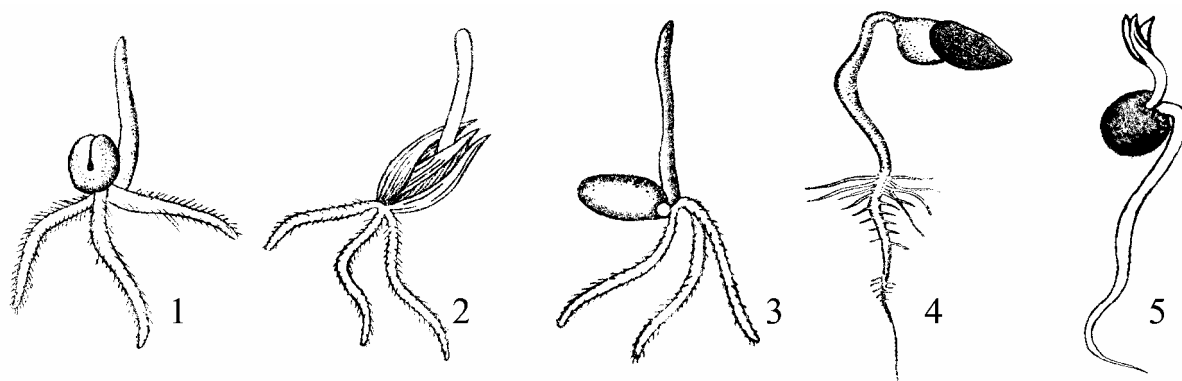


Рис. 4. Проросшие семена: 1 – пшеницы; 2 – овса; 3 – ржи; 4 – подсолнечника; 5 – вики

Определение в чашках Петри. На дно чашек Петри помещают фильтровальную бумагу и увлажняют ее растворами с рН - 5, 7 и 9. На влажную бумагу раскладывают семена и накрывают их фильтровальной бумагой, смоченной соответствующим раствором. Чашки Петри закрывают крышкой и помещают в термостат при температуре 25°C. Ежедневно фильтровальную бумагу увлажняют раствором согласно варианту опыта. На третий день определяют энергию прорастания. После этого чашки Петри с проростками выставляют на рассеянный свет. Через семь дней отмечают всхожесть.

Определение в кюветах на стекле. На дно кювет укладывают стекла, обернутые сверху фильтровальной бумагой, и увлажняют ее растворами с рН - 5, 7 и 9. На влажную бумагу помещают семена и накрывают их фильтровальной бумагой, смоченной соответствующим раствором. Кюветы накрывают стеклом для сохранения влажности и помещают в термостат при температуре 25°C. Ежедневно фильтровальную бумагу увлажняют раствором согласно варианту

опыта. На третий день определяют энергию прорастания семян, на седьмой – всхожесть.

Определение в рулонах. Из фильтровальной бумаги нарезают полосы длиной 35 – 40 см и шириной - 15 см. Полосы бумаги складывают по ширине вдвое, разворачивают, смачивают и на половине полосы раскладывают семена одной повторности. Семена покрывают второй частью полосы, бумагу сворачивают в рулоны, помещают вертикально и неплотно один к другому в сосуды по несколько штук согласно вариантам опыта. Сосуды помещают в термостат при температуре 25 °С и регулярно увлажняют. Для проведения учета рулоны вынимают из сосудов и разворачивают на столе, осторожно отделяя верхний слой бумаги.

Определение в песчаной культуре. Кювету наполняют промытым и прокаленным кварцевым песком. В песке с помощью деревянной палочки делают углубления на 1 см и укладывают в них семена, заделывают вровень с песком. Песок увлажняют соответственно варианту опыта. Кювету помещают в термостат при температуре 25 °С и регулярно увлажняют. На третий день определяют энергию прорастания семян, на седьмой - всхожесть.

Таблица 7

Объект	Метод	pH	Повторность	Количество проросших семян, шт.	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %

Полученные данные обрабатывают статистически и представляют графически. Делают вывод о влиянии pH на энергию прорастания и всхожесть семян двудольных и однодольных растений, показывая возможности разных методов определения качества посевного материала.

Работа 8. Определение жизнеспособности семян

Цель работы: определить жизнеспособность зародышей семян разных видов растений.

Объекты исследований: семена двудольных и однодольных растений.

Материалы и оборудование: мерные цилиндры на 25 мл, чашки Петри, лезвие, пинцет, маркер, фильтровальная бумага, 0,2%-ный раствор хлористого тетразолия, термостат.

Метод основан на окрашивании зародышей жизнеспособных семян хлористым тетразолием. При участии дегидрогеназ - ферментов, катализирующих дегидрирование дыхательного субстрата, - прорастающий зародыш окрашивается в красный цвет в результате перехода соли тетразолия из окисленного в восстановленное состояние. При высокой активности дегидрогеназ в тканях зародыша семени развивается наиболее интенсивная окраска.

Ход работы

Семена разных видов растений помещают на влажную фильтровальную бумагу в чашки Петри и оставляют в термостате при температуре 25 °С в течение 24 часов. Затем семена разрезают лезвием на две половинки, промывают несколько раз для удаления разрезанных тканей. Контрольную часть половинок семян помещают в чашку Петри с водой, опытную - в чашку Петри с 0,2%-ным хлористым тетразолием. Опыт проводят в трехкратной повторности. Чашки оставляют в термостате при температуре 28 - 30°С на 2 часа. После этого определяют количество окрашенных семян, вычисляют их процент по отношению к общему числу. Результаты оформляют в табл. 8, обрабатывают статистически.

Таблица 8

Объект	Вариант	Повторность	Количество семян, шт.	Количество окрашенных зародышей, шт.	Жизнеспособные семена, %
	контроль опыт				

Зарисовывают окрашенные семена разных видов растений. Делают вывод о жизнеспособности семян, показывают возможность использования метода для установления оптимальных норм посева.

Работа 9. Влияние химических регуляторов роста на укоренение растений

Цель работы: выявить особенности применения химических регуляторов роста для ускорения образования корней.

Объекты исследований: черенки разных видов растений.

Материалы и оборудование: ИУК в концентрациях 10^{-3} М, 10^{-5} М, 10^{-7} М, 2,4 – Д в концентрациях 10^{-3} М, 10^{-5} М, 10^{-7} М, мерный цилиндр на 25 мл, химические стаканы на 100 и 500 мл, кварцевый песок, стекло, миллиметровая и фильтровальная бумага.



Рис. 5. Влияние химических регуляторов роста на укоренение растений: 1 - контроль; 2 - опыт

Использование химических регуляторов роста при вегетативном размножении растений имеет большое практическое значение. Для обработки растений в целях ускорения процесса корнеобразования применяют индолил-3-уксусную кислоту (ИУК), а также синтетический ее аналог – 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4 – Д). В зависимости от концентрации и времени воздействия используемые вещества могут ингибировать или стимулировать интенсивность ростовых процессов.

Ход работы

Черенки разных видов растений на треть длины погружают в растворы ИУК и 2,4 - Д различных концентраций. Первую часть черенков подвергают действию растворов регуляторов роста в течение 3 часов, вторую – 6 часов. После обработки черенки ополаскивают и высаживают в промытый кварцевый песок или помещают в воду.

Опыт проводят в трехкратной повторности. Одновременно проводят эксперимент с черенками, не подвергавшимися обработке. Черенки оставляют на свету при температуре около 20 °С до образования корней. В конце опыта учитывают число возникших корней и определяют их длину на черенках в разных вариантах (рис. 5). Результаты оформляют в табл. 9. Отмечают суммарную длину корешков (см), среднюю длину корешков на одно растение (см), длину корешка по отношению к контролю (%).

Таблица 9

Объект	Повтор-ность	Время обработки	Контроль	Концентрация препаратов (М)					
				ИУК			2,4 – Д		
				10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷

Результаты обрабатывают статистически и представляют графически. Делают вывод о влиянии на укоренение растений концентрации и времени воздействия используемых химических регуляторов роста.

Работа 10. Влияние факторов внешней среды на развитие растений

Цель работы: ознакомиться с методикой фенологических наблюдений.

Объекты исследований: двудольные и однодольные растения на разных фазах развития.

Материалы и оборудование: карандаш, полевой дневник.

Изучение фаз развития растений, сроков их наступления и продолжительности у разных видов в меняющихся условиях - предмет науки фенологии. При наблюдениях за фенологическими фазами у растений отмечают морфологические признаки, связанные с появлением в онтогенезе новых органов, и хозяйственно важные показатели. Точную регистрацию времени наступления фаз развития осуществляют с помощью систематических фенологических наблюдений, проводимых по единой методике. В течение вегетационных опытов отмечают время наступления и окончания фенологических фаз, что по-

звояет сравнить темпы развития растений на фоне действия различных экологических факторов.



Рис. 6. Фазы развития пшеницы:

- 1 – всходы; 2 – третий лист; 3 – кущение;
4 – выход в трубку; 5 – колошение; 6 – цветение;
7 – молочная спелость; 8 – восковая спелость

Ход работы

У однодольных растений наблюдают начало и полное наступление (более чем у 50% особей) следующих фаз развития (рис. 6):

1. Всходы: появление зеленых проростков.
2. Развитие третьего листа: появление верхушки третьего листа из пазухи второго.
3. Кущение: появление боковых побегов.
4. Выход в трубку: появление на главном побеге первичного узла, прощупываемого пальцами.
5. Колошение: выход колоса из влагалища верхнего листа.
6. Цветение: раскрытие цветков, появление пыльников.
7. Молочная спелость: у зерен в средней части колоса, достигшего 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.

Таблица 10

Объект	Вариант опыта	Всходы		Развитие листьев		Кушение	
		начало	полное	начало	полное	начало	полное

У двудольных растений отмечают начало и полное наступление следующих фаз развития: 1) всходы; 2) образование листьев; 3) ветвление стебля; 4) образование соцветий; 5) бутонизация; 6) цветение; 7) образование плодов; 8) созревание семян (рис. 7).



Рис. 7. Фазы развития фасоли:

1 – всходы; 2 – второй настоящий лист;
3 – образование соцветий; 4 – цветение; 5 – созревание

Наблюдаемые фенофазы развития растений зарисовывают. Результаты работы оформляют в табл. 10, точно указывая время наступления фаз. В выводах отмечают влияние факторов внешней среды на темпы развития разных видов растений.

Вопросы для обсуждения

1. Особенности исследования процессов роста и развития при проведении вегетационных опытов.
2. Оценка роста по морфо-физиологическим параметрам в условиях водной и песчаной культуры, полевого эксперимента.
3. Методы определения функциональных характеристик семян. Использование показателей - энергии прорастания, всхожести и жизнеспособности семян в практических целях.
4. Влияние факторов внешней среды - освещенности, температуры, влажности, газового состава атмосферы, минерального питания, кислотности субстрата на ростовые процессы.
5. Влияние эндогенных факторов на рост и развитие растений.
6. Особенности гормональной системы растений. Природные и синтетические регуляторы роста.
7. Функция фитогормонов и ингибиторов роста на разных этапах онтогенеза растений.
8. Характеристика факторов внешней среды, обеспечивающих прохождение отдельных фаз сезонного развития растений.
9. Задачи и перспективы управления процессами роста и развития растений.

Рекомендуемая литература

1. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений. Л.: Изд-во ЛГУ, 1991. 238 с.
2. Экологические аспекты регуляции роста и продуктивности растений / Под ред. О.В. Титовой. Ярославль: Изд-во ЯрГУ, 1991. 340 с.
3. Дерфлинг К. Гормоны растений. М.: Мир, 1985. 303 с.
4. Полевой В.В. Фитогормоны. Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. 249 с.
5. Рост растений и дифференцировка / Под ред. В.И. Кефели. М.: Наука, 1981. 274 с.

Тема 4. Водный режим

Все физиологические процессы в растении нормально протекают лишь при полном его обеспечении водой. Внешние факторы среды могут нарушать естественное водоснабжение растительных тканей, приводить к их обезвоживанию. Существенное влияние на водный обмен растений оказывают условия минерального питания, доступ-

ность воды, интенсивность освещения и многие другие факторы. Водный стресс лимитирует процессы роста и развития растений, уменьшает продуктивность фотосинтеза, нарушает обмен веществ. Эффективность использования воды растением можно повысить, создавая для него оптимальные условия водоснабжения и питания. Исследование водного режима при постановке вегетационных опытов способствует установлению особенностей взаимоотношений растений с окружающей средой, выявлению влияния разных экологических факторов на водный обмен. Познавание этих закономерностей важно при разработке рациональных приемов агротехники, направленных на улучшение условий культивирования растений.

Работа 11. Определение водного дефицита при действии на растение различных стрессовых факторов

Цель работы: выявить водный дефицит в листьях разных видов растений с учетом экологических факторов внешней среды.

Объекты исследований: растения в разных экологических условиях.

Материалы и оборудование: весы с разновесами, чашки Петри, ножницы, большие стеклянные бюксы, сушильный шкаф, банка или большой стакан с крышкой, эксикатор, CaCl_2 , фильтровальная бумага.

Водный дефицит возникает при скорости транспирации, превышающей поступление воды в листья. Его уровень зависит от экологических условий среды, действия неблагоприятных факторов, а также возраста и видовой принадлежности растения. Величину водного дефицита находят, выражая количество воды, недостающее до полного насыщения, в процентах от количества воды, содержащейся в насыщенных водой клетках. Водный дефицит, не превышающий 10%, представляет собой нормальное явление, не причиняющее растению вреда. При 25%-ном водном дефиците происходит завядание листьев, закрывание устьиц, снижение интенсивности фотосинтеза и роста, нарушение энергетического обмена и синтетической деятельности клеток.

Ход работы

Пустые стеклянные бюксы высушивают в сушильном шкафу, охлаждают в эксикаторе и взвешивают (n). Помещают в бюксы по

5 листьев или, если листья крупные, вырезанные из них вдоль средней жилки куски. Для получения сравнимых результатов следует брать листья определенного яруса. При укладке листьев в бюксы не допускают их поломки. Немедленно плотно закрывают бюксы крышками и взвешивают (а). Опыт проводят в трехкратной повторности.

Готовят влажную камеру – обкладывают стенки банки или стакана фильтровальной бумагой, наливают в сосуд немного воды и, наклоняя его, добиваются полного смачивания бумаги. Вынимают листья из бюкса, раскладывают на полоске влажной фильтровальной бумаги, сворачивают ее в трубку, вложив туда этикетку с написанным простым карандашом номером бюкса. Помещают материал во влажную камеру, располагая листья черешками вниз, закрывают куском стекла или крышкой чашки Петри и оставляют для насыщения на 2 часа. Вынимают пробы из влажной камеры, обсушивают фильтровальной бумагой, помещают в те же бюксы и взвешивают (б).

Высушивают листья в сушильном шкафу при температуре 100 – 105 °С, охлаждают в эксикаторе с CaCl_2 и взвешивают (с). Результаты работы оформляют в табл. 11.

Таблица 11

Объект	Вариант опыта	Повторность	Масса, г				Содержание воды, %		Водный дефицит, %
			n	a	b	c	x	y	

Формулы для расчета:

$$x = \frac{a - c}{a - n} \cdot 100\%, \quad y = \frac{b - c}{b - n} \cdot 100\%, \quad d = \frac{b - a}{b - c} \cdot 100\%,$$

где n – масса пустого бюкса (г), a – масса бюкса с навеской до насыщения (г), b – масса бюкса с навеской после насыщения (г), c – масса бюкса с абсолютно сухой навеской (г), x – содержание воды до насыщения (%), y – содержание воды после насыщения (%), d – водный дефицит (%).

Результаты работы обрабатывают статистически и представляют графически. В выводах сравнивают водный дефицит в листьях растений, произрастающих в разных экологических условиях.

Работа 12. Определение интенсивности транспирации листьев разных ярусов

Цель работы: сравнить интенсивность транспирации верхних и нижних листьев растений в разное время суток.

Объекты исследований: растения в разных экологических условиях.

Материалы и оборудование: весы с разновесами, ножницы, чашки Петри, миллиметровая и фильтровальная бумага, водяная баня, парафин.

Интенсивность транспирации - это количество воды, испаренной в единицу времени единицей листовой поверхности. Отношение интенсивности транспирации к интенсивности эвапорации - испарения со свободной водной поверхности - при тех же условиях называется относительной транспирацией. Этот показатель характеризует способность растений регулировать транспирацию. Простым и точным методом учета транспирации является метод быстрого взвешивания. Побег или отдельный лист срезают и дважды взвешивают с интервалом во времени. Установленное этим методом уменьшение массы органов соответствует количеству испаренной воды.

Ход работы

Кончики черешков 3-4-х листьев опускают в расплавленный на водяной бане парафин для предотвращения потери воды через сосуды и взвешивают (m_0). Последующие взвешивания листьев проводят через 1 и 2 часа.

Таблица 12

Объект	Номер листа	Масса листьев, г			Потеря воды, г		Потеря воды от ис- ходной массы, %		Площадь листа, см ²
		m_0	1 ч.	2 ч.	1 ч.	2 ч.	1 ч.	2 ч.	

Определение площади поверхности листа. Для этого взвешивают квадрат миллиметровой бумаги известной площади, например 100 см². Накладывают на этот квадрат исследуемый лист, аккуратно обводят карандашом листовую пластинку, вырезают и взвешивают полученную бумажную фигуру. Площадь листа вычисляют по пропорции:

$$\frac{a}{b} = \frac{c}{s},$$

$$s = \frac{b \cdot c}{a},$$

где a - масса квадрата (г); b – масса бумажной фигуры (г); c - площадь квадрата (см^2); s - площадь листа (см^2). Результаты оформляют в табл. 12.

Одновременно при тех же условиях определяют интенсивность эвапорации - свободного испарения. Для этого взвешивают чашку Петри, наполненную почти до краев водой. При этом наружная поверхность чашки должна быть совершенно сухой. Через 1 и 2 часа делают повторные взвешивания. Определяют испаряющую поверхность, измеряя внутренний диаметр чашки Петри.

Интенсивность транспирации I_T ($\text{г}/\text{м}^2 \cdot \text{ч.}$) вычисляют по формуле:

$$I_T = \frac{n \cdot 10000 \cdot 60}{s \cdot t},$$

где n – количество испарившейся воды (г); s – площадь (см^2); t - экспозиция (мин.); 10 000 – коэффициент перевода см^2 в м^2 ; 60 - коэффициент перевода минут в часы.

Интенсивность эвапорации I_e ($\text{г}/\text{м}^2 \cdot \text{ч.}$) вычисляют по этой же формуле. Рассчитывают относительную транспирацию: I_T / I_e . Величина относительной транспирации менее 0,5 считается низкой. Результаты по разным видам растений и вариантам опыта обобщают в табл. 13.

Таблица 13

Объект	Вариант опыта	Повторность	I_T , $\text{г}/\text{м}^2 \cdot \text{ч.}$	I_e , $\text{г}/\text{м}^2 \cdot \text{ч.}$	I_T / I_e

Результаты работы обрабатывают статистически и представляют графически. На основании величины относительной транспирации делают вывод о регуляции листьями разных видов растений процесса транспирации в зависимости от экологических условий произрастания.

Работа 13. Влияние влажности субстрата на оводненность листьев и концентрацию клеточного сока

Цель работы: выявить содержание воды и концентрацию клеточного сока в листьях растений.

Объекты исследований: двудольные и однодольные растения в разных условиях увлажнения.

Материалы и оборудование: бюксы, сушильный шкаф, щипцы, весы с разновесами, эксикатор, рефрактометр, фильтровальная бумага, ступка, ножницы, марля, промывалка.

В листьях большинства растений средней полосы в зависимости от условий внешней среды и этапов онтогенеза содержится 65 - 82% воды от сырой массы. Степень оводненности растений является одним из существенных показателей их водного режима. С содержанием воды связаны концентрация клеточного сока, водный потенциал отдельных органов растения, отношение его к почвенной и атмосферной засухе. Определение содержания воды в листьях позволяет выяснить эколого-физиологические особенности растений, установить механизмы их адаптации к условиям среды.

Ход работы

Содержание воды и сухого вещества в листьях определяют весовым методом. Берут только нормально развитые, зеленые, не имеющие явных следов повреждения и подсыхания листья. Каждое определение проводят в трехкратной повторности при навеске сырых листьев не менее 5 г.

Сначала определяют массу абсолютно сухого бюкса. Для этого чисто вымытый бюкс с крышкой, поставленной в вертикальное положение, помещают на полку сушильного шкафа с температурой 100 - 105°C. Через час бюкс берут тигельными щипцами и ставят его открытым в эксикатор на 30 минут для охлаждения. После этого бюкс закрывают крышкой, берут щипцами и взвешивают. Затем его еще раз ставят в сушильный шкаф на 20 - 30 минут, охлаждают в эксикаторе и снова взвешивают. Если масса бюкса не изменится, то в него можно помещать пробу.

Бюкс с растительным материалом взвешивают и ставят на 5 часов в шкаф, нагретый до 105 °C, затем охлаждают в эксикаторе (бюкс должен быть открыт) и вновь взвешивают. Однако 5 часов для удаления всей влаги из растения бывает недостаточно, поэтому бюксы после взвешивания открывают и помещают в сушильный шкаф при той же температуре. Потом охлажденные в эксикаторе бюксы снова взвешивают. Так повторяют до тех пор, пока масса бюкса с материалом не будет постоянной или последующая масса не станет несколько больше предыдущей.

При работе необходимо соблюдать следующие правила. Сырой материал должен лежать в бюксе рыхло. Нельзя держать его в шкафу без перерыва дольше 5 часов. Бюкс с навеской нужно ставить в нагретый до 105 °С шкаф. Температура в различных частях его не бывает постоянной, поэтому бюксы желательно помещать на одном уровне с шариком термометра. Не следует их придвигать близко к стенкам шкафа, так как они могут иметь более высокую температуру, чем показывает термометр. Брать бюксы надо щипцами, на концы которых надеты каучуковые кольца, так как при прикосновении к бюксам пальцами можно изменить их массу.

Вычитая из массы исходного растительного материала массу высушенного материала, получают количество воды во взятой навеске. Рассчитывают содержание воды в процентах от сырой и сухой массы материала. Результаты оформляют в табл. 14.

Таблица 14

Объект	Вариант опыта	Повторность	Сырая масса, г	Сухая масса, г	Содержание воды			Концентрация сока, %
					г	Процент к сырой массе	Процент к сухой массе	

Определение концентрации клеточного сока проводят при помощи рефрактометра. Листья исследуемых растений растирают в ступке, полученную массу переносят на двойной слой марли и отжимают сок. Несколько капель сока наносят на нижнюю поверхность призмы рефрактометра и прижимают верхней поверхностью призмы. Направляют прибор на свет и вращением винта на тубусе добиваются четкого изображения в окуляре вертикальной шкалы с делениями, обозначающими процент сахарозы в растворе. Деление шкалы, через которое проходит горизонтальная граница между светлым и темным полями, соответствует концентрации сахарозы в клеточном соке испытуемого растения (табл. 15).

Для каждого варианта опыта проводят не менее трех определений. При переходе с одного варианта на другой призму протирают

сначала влажной, а затем сухой фильтровальной бумагой, чтобы смыть предыдущий раствор.

Таблица 15

**Содержание сахарозы (%) в растворе по показателю
преломления при + 20 °С**

nD^{20°	Процент сахарозы	nD^{20°	Процент сахарозы	nD^{20°	Процент сахарозы
1,33443	1	1,34937	11	1,36551	21
1,33588	2	1,35093	12	1,36719	22
1,33733	3	1,35250	13	1,36888	23
1,33880	4	1,35408	14	1,37059	24
1,34027	5	1,35567	15	1,37230	25
1,34176	6	1,35728	16	1,37400	26
1,34326	7	1,35890	17	1,37580	27
1,34477	8	1,36053	18	1,37750	28
1,34629	9	1,36218	19	1,37930	29
1,34783	10	1,36384	20	1,38110	30

Результаты работы представляют в виде табл. 14 и графика. Проводят статистическую обработку экспериментальных данных. В выводах отмечают изменения оводненности и концентрации клеточного сока листьев у разных видов растений в зависимости от уровня влажности субстрата.

Работа 14. Влияние внешних условий на состояние устьиц

Цель работы: определить степень открытости устьиц методом инфильтрации.

Объекты исследований: растения в разных условиях водообеспечения.

Материалы и оборудование: петролейный эфир, ксилол, этиловый спирт в капельницах.

Причиной устьичных движений могут быть самые разнообразные факторы: свет, оводненность тканей, температура, концентрация углекислого газа в межклетниках. Степень открытости устьиц может быть физиологическим показателем для определения обеспеченности растений водой и установления сроков полива. Диагностика состоя-

ния устьиц методом инфильтрации основана на способности жидкостей, смачивающих клеточные стенки, проникать через открытые устьичные щели в ближайшие межклетники, вытесняя из них воздух. При этом на листьях появляются прозрачные пятна. Жидкости проникают в устьичные щели в зависимости от их ширины: петролейный эфир - через слабо открытые устья, ксилол - через средне открытые, а этиловый спирт - только через широко открытые. Данный метод прост и вполне применим в полевых условиях.

Ход работы

На нижнюю поверхность листа наносят отдельно маленькие капли петролейного эфира, ксилола и этилового спирта. Держат лист в горизонтальном положении до полного исчезновения пятен, которые могут либо испариться, либо проникнуть внутрь листа. Рассматривают лист в проходящем свете. Если жидкость проникла в межклетники листа, то на нем появляются прозрачные пятна. Результаты оформляют в табл. 16, отмечая проникновение жидкости знаком плюс, а отсутствие проникновения - знаком минус.

Таблица 16

Объект	Вариант опыта	Петролейный эфир	Ксилол	Спирт	Состояние устьиц

На основании полученных данных делают вывод о разной степени открытости устьиц у растений в условиях оптимального и недостаточного водоснабжения.

Вопросы для обсуждения

1. Особенности изучения водного обмена растений при проведении вегетационных опытов в лабораторных и полевых условиях.
2. Методы определения водного дефицита, интенсивности транспирации, оводненности, концентрации клеточного сока, степени открытости устьиц у дикорастущих и культурных растений.
3. Влияние внешних и внутренних факторов на поглощение, транспорт и потерю воды растениями.
4. Особенности водного режима растений различных экологических групп. Пути их адаптации к условиям водоснабжения.

5. Изменение физиологических процессов у растений в условиях водного стресса.

6. Значение показателей водообмена для оценки функционального состояния растений при экологических исследованиях.

7. Практическое использование параметров водного режима в целях оптимизации условий для жизнедеятельности растений.

Рекомендуемая литература

1. Водный обмен растений / Под ред. И.А. Тарчевского. М.: Наука, 1989. 256 с.

2. Саламатова Т.С. Физиология растительной клетки. Л.: Изд-во ЛГУ, 1983. 232 с.

3. Кушниренко М.Д., Печерская С.Н. Физиология водообмена и засухоустойчивости растений. Кишинев: Штиинца, 1991. 306 с.

4. Пахомова Г.И., Безуглов В.К. Водный режим растений. Казань: Изд-во КГУ, 1980. 252 с.

5. Шматько И.Г., Григорюк И.А., Шведова О.Е. Устойчивость растений к водному и температурному стрессам. Киев: Наукова думка, 1989. 221 с.

6. Методы исследования водообмена растений / Под ред. Н.А. Гусева. Казань: Изд-во КГУ, 1982. 107 с.

Тема 5. Фотосинтез

Продуктивность растений определяется фотосинтезом, который поставляет конструктивные вещества, обеспечивая накопление биомассы. В естественных условиях на фотосинтез действует сложный комплекс постоянно изменяющихся факторов среды. Суточные и сезонные колебания интенсивности и качества света, температуры, концентрации углекислого газа и кислорода, условий водоснабжения оказывают определенное влияние на активность фотосинтетического аппарата. Проведение вегетационных опытов позволяет исследовать природу адаптивных реакций фотосинтеза на изменение внешних условий, выявить основные закономерности и оптимальные условия функционирования фотосинтетического аппарата как целостной системы.

Работа 15. Определение площади поверхности листьев растений разных видов

Цель работы: выяснить изменение площади листовой поверхности у растений в зависимости от видовой принадлежности и условий произрастания.

Объекты исследований: двудольные и однодольные растения в разных экологических условиях.

Материалы и оборудование: весы с разновесами, ножницы, пинцет, линейка, маркер, марля, фильтровальная бумага, пробочные сверла диаметром 5-10 мм, бюксы.

Важным фактором, определяющим фотосинтетическую продуктивность растений, является площадь поверхности листьев. Этот показатель используется для характеристики светопоглощения и позволяет оценивать интенсивность фотосинтеза на единицу листовой поверхности в расчете на растение или фитоценоз. Используемые в работе методы наиболее доступны, просты и производительны, что делает их особенно ценными при проведении вегетационных опытов.

Ход работы

1-й метод. Отбирают среднюю пробу листьев и определяют их массу. Затем из каждого листа выбивают сверлом определенного диаметра несколько высечек, объединяют вместе и устанавливают их массу. Диаметр сверла выбирают в зависимости от размеров листовой пластинки и ее поверхностной плотности. Зная площадь одной высечки ($S = 2\pi r^2$), вычисляют площадь всех высечек. Определяют площадь листьев растений из пропорции:

$$\frac{m_1}{m_2} = \frac{s_1}{s_2}, \quad s_2 = \frac{m_2 \cdot s_1}{m_1},$$

где m_1 – общая масса сырых высечек (г); s_1 – общая площадь высечек (см^2); m_2 – общая масса сырых листьев (г); s_2 – общая площадь листьев (см^2).

2-й метод. Используют при определении площади листьев у злаковых культур. Измеряют с помощью линейки ширину листа у основания и его длину. Расчет ведут по формуле площади линейных ли-

стьев:

$$S = \frac{2}{3} \cdot a \cdot b,$$

где S – площадь листа (см^2); a – ширина листа у его основания (см); b – длина листа (см).

Этот метод не требует срезания листьев с растения для определения их площади. Измерения параметров листа можно проводить на живом растении и повторять неоднократно в течение вегетационного опыта в целях установления изменения площади фотосинтезирующей поверхности.

Результаты работы оформляют в виде табл. 17 и графика, показывающего динамику изменения площади листьев в течение вегетационных опытов. Вычисляют средние значения площади поверхности листьев растений в разных вариантах опыта. Оценивают точность и достоверность различий полученных данных.

Таблица 17

Объект	Вариант опыта	Повторность	1-й метод				2-й метод		
			m_1	m_2	s_1	$S_{\text{листьев}}$	a	b	$S_{\text{листьев}}$

Делают вывод о влиянии на развитие фотосинтезирующей поверхности листьев различных факторов внешней среды в зависимости от видовой принадлежности растений.

Работа 16. Определение интенсивности фотосинтеза по изменению содержания углерода в листьях

Цель работы: оценить уровень накопления углерода в листьях разных видов растений.

Объекты исследований: двудольные и однодольные растения в различающихся экологических условиях.

Материалы и оборудование: 0,4 н. раствор бихромата калия в разбавленной серной кислоте 1:1, 0,2 н. раствор соли Мора, дифениламин, 85%-ная ортофосфорная кислота, воронки, стеклянные капилляры, конические колбы на 250 мл, бюретки, штативы, мерные цилиндры на 100 мл, пробочные сверла диаметром 5 – 10 мм.

Результатом фотосинтеза является восстановление углерода углекислого газа и аккумуляция его в синтезируемых органических веществах. Поскольку между количеством образующихся ассимилятов и фотосинтетической активностью листа существует прямая зависи-

мость, то по накоплению углерода органического вещества можно судить об интенсивности фотосинтеза. Количество накопленного углерода органического вещества находят по разности между содержанием его в конце и начале опыта, а потом рассчитывают на единицу листовой поверхности и единицу времени.

Ход работы

Сверлом вырезают из листа диски общей площадью 3 см² и помещают в коническую колбу на 250 мл, куда заранее из бюретки наливают 10 мл 0,4 н. раствор K₂Cr₂O₇ в разбавленной серной кислоте. Колбу закрывают маленькой воронкой, служащей обратным холодильником, и ставят на электрическую плитку. Окисление углерода происходит по уравнению:



Чтобы избежать неравномерного кипения, в колбу опускают несколько стеклянных капилляров. Как только раствор закипит, замечают время и слабо кипятят точно 5 минут. Затем колбу снимают с горелки и охлаждают. Жидкость должна быть буроватого цвета. Если окраска ее зеленоватая, это указывает на недостаточное количество бихромата калия, взятого для окисления органических веществ. В этом случае определение повторяют, увеличивая количество реактива или уменьшая число высечек.

К охлажденному раствору приливают 150 мл дистиллированной воды, 3 мл 85%-ной ортофосфорной кислоты и 10 капель дифениламина, взбалтывают содержимое колбы и оттитровывают 0,2 н. раствором соли Мора. Внимательно следят за переходом бурой окраски в синюю и продолжают титровать до превращения ее в зеленую от одной капли соли Мора. При титровании солью Мора шестивалентный хром восстанавливается в трехвалентный:



Одновременно проводят контрольное определение (без растительного материала), тщательно соблюдая все указанные выше операции.

Количество углерода органического вещества (мг), содержащегося в 1 дм² листовой поверхности, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot K \cdot 0,6 \cdot 100}{S},$$

где а – количество раствора соли Мора, израсходованное на титрование контрольного раствора (мл); b – количество раствора соли Мора, пошедшее на титрование опытного раствора (мл); К – поправка к титру раствора соли Мора; 0,6 – миллиграммы углерода, соответствующие 1 мл точно 0,2 н. раствора соли Мора; S – площадь высечек (см²).

Таблица 18

Объект	Вариант опыта	Повторность	Количество соли Мора, мл		Площадь высечек, см ²	Количество углерода, мг/дм ²	Интенсивность фотосинтеза, мг·дм ² /ч
			контроль (a)	опыт (b)			

Определение содержания углерода в листьях растений для каждого варианта опыта проводят в трехкратной повторности. Результаты обрабатывают статистически, оформляют в виде табл. 18 и графика. Делают вывод о накоплении углерода в листьях разных видов растений, характеризуют интенсивность фотосинтеза в зависимости от экологических условий.

Работа 17. Влияние факторов внешней среды на продуктивность фотосинтеза

Цель работы: выявить изменение продуктивности растений в разных условиях вегетационного опыта.

Объекты исследований: дикорастущие и культурные растения с большими листовыми пластинками.

Материалы и оборудование: весы с разновесами, бюксы, эксикатор, скрепки, черная и белая бумага, ножницы, пробочные сверла диаметром 5 - 10 мм, сушильный шкаф.

На долю органических соединений, образующихся в процессе фотосинтеза, приходится около 95% общей биомассы растительного организма. Изменение сухой массы отражает ассимиляционную деятельность и продуктивность растений. Накопление органического

вещества зависит от интенсивности ассимиляции углекислого газа, дыхания и оттока ассимилятов. Используемый в работе метод позволяет установить прирост сухого вещества у растений в течение вегетационного опыта на фоне различных факторов внешней среды.

Ход работы

Для исследований отбирают листья одного яруса. Первую пробу для определения содержания сухого вещества берут в момент начала опыта. Для этого срезают половинку листа вдоль средней жилки, не затрагивая ее. Определяют площадь листовой поверхности (работа 15). Диски в трехкратной повторности помещают в предварительно взвешенные бюксы и ставят в сушильный шкаф. Высушивание ведут при температуре 100 – 105 °С до постоянной массы. После этого определяют массу сухих дисков (B_1).

Вторая половинка листа остается на растении в течение нескольких часов для ассимиляции на свету углекислого газа и накопления органического вещества. Затем с ней поступают так же, как и с первой половинкой, определяя сухую массу (B_2). Разница в уровне сухой массы одинакового числа дисков ткани листа до и после экспозиции свидетельствует о накоплении листом сухого вещества за исследуемый промежуток времени ($B = B_2 - B_1$).

Для определения траты ассимилятов на дыхание и отток берут такой же лист на другом растении этого же варианта. Одну его половинку отрезают и определяют сухое вещество в листе до опыта (C_1). Вторую половинку оставляют на растении и накрывают бумажным колпачком, черным внутри и белым снаружи. По прошествии времени опыта колпачок снимают и определяют во второй половинке листа содержание сухого вещества (C_2). Разница с сухим веществом первой половинки характеризует убыль органического вещества в результате дыхания и оттока ($C = C_1 - C_2$).

Общую интенсивность ассимиляции с учетом дыхания и оттока веществ рассчитывают по формуле: $D = B + C$. Результаты работы оформляют в табл. 19. Вычисляют продуктивность фотосинтеза на определенную площадь листьев за время опыта по формуле:

$$A = \frac{D - B_1}{\frac{1}{2} \cdot (S_1 + S_2) \cdot n},$$

где A – продуктивность фотосинтеза ($\text{г/см}^2 \cdot \text{ч}$); B_1 – сухая масса растительной навески в начале опыта (г); D – сухая масса растительной навески в конце опыта с учетом дыхания и оттока веществ (г); S_1 – площадь листьев в начале опыта (см^2); S_2 – площадь листьев в конце опыта (см^2); n – время между двумя определениями (ч).

Таблица 19

Объект	Повторность	Сухая масса листьев, г							Площадь листьев, см^2		A_2 $\text{г/см}^2 \cdot \text{ч}$
		B_1	B_2	B	C_1	C_2	C	D	S_1	S_2	

На основе статистической обработки полученных данных оценивают их точность и достоверность разницы между вариантами опытов. Результаты работы представляют графически. Делают вывод о зависимости продуктивности фотосинтеза от видовой принадлежности растений и факторов внешней среды.

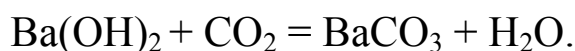
Работа № 18. Определение потери органического вещества по количеству выделенного диоксида углерода

Цель работы: сравнить интенсивность окисления органических веществ у растений в условиях различных стрессовых воздействий.

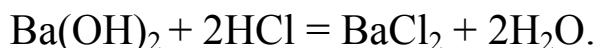
Объекты исследований: проросшие и непроросшие семена, двудольные и однодольные растения.

Материалы и оборудование: 0,1 н. $\text{Ba}(\text{OH})_2$, 0,1 н. HCl , бюретки, штативы, 1%-ный раствор фенолфталеина в каплеуловителе, весы с разновесами, конические колбы на 250 – 300 мл с резиновыми пробками, в которые вставлены металлические крючки; марля, ножницы, фильтровальная бумага, стакан с водой.

Метод заключается в учете количества углекислого газа, выделяемого семенами или листьями растений при окислении органических веществ. Диоксид углерода реагирует со щелочью по уравнению:



Избыток щелочи, не прореагировавшей с углекислым газом, оттитровывают соляной кислотой:



Продолжительность опыта зависит от массы навески и интенсивности окислительных процессов у исследуемых объектов.

Ход работы

Навеску исследуемого материала (5 – 10 г) помещают в марлевый мешочек. В две конические колбы наливают с помощью бюретки по 10 мл 0,1 н. $\text{Ba}(\text{OH})_2$ и плотно закрывают их пробками. Необходимо помнить, что щелочь нельзя оставлять открытой, так как она легко поглощает CO_2 воздуха. В одну колбу, приоткрыв ее, быстро подвешивают на крючок пробки мешочек с растительным материалом, другую используют в качестве контроля (рис. 8). Записывают время начала экспозиции.

Колбы с объектами, содержащими хлорофилл, необходимо на время опыта поместить в темноту для исключения процесса фотосинтеза. Время от времени колбы следует осторожно покачивать, чтобы разрушить пленку $\text{Ba}(\text{OH})_2$, препятствующую полноте поглощения CO_2 , не допуская попадания ни одной капли раствора на мешочек с материалом. Через 1 - 2 часа мешочки вынимают и отмечают время окончания опыта.

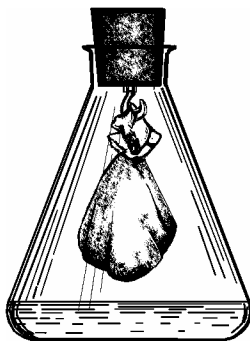


Рис. 8. Колба для определения интенсивности выделения углекислого газа

Добавляют 2-3 капли фенолфталеина и оттитровывают оставшуюся щелочь 0,1 н. HCl до слабо-розового окрашивания, исчезающего от одной капли кислоты. Так же оттитровывают щелочь в контрольной колбе. При титровании колбы закрывают пробкой, через которую проходит плотно вставленный конец бюретки. Контрольную колбу можно титровать через 20 минут после того, как налит раствор

щелочи, в течение этого времени колбу необходимо периодически взбалтывать.

Интенсивность выделения углекислого газа рассчитывают по формуле:

$$I = \frac{(a - b) \cdot K \cdot 2,2}{n \cdot t},$$

где а - количество соляной кислоты, израсходованной на титрование щелочи в контрольной колбе (мл); b – количество соляной кислоты, израсходованной на титрование щелочи в опытной колбе (мл); К - поправка к титру 0,1 н. раствора соляной кислоты; 2,2 - количество CO₂, соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора соляной кислоты (мг); n - масса навески; t – время (ч).

Таблица 20

Объект	Вариант опыта	Повторность	Навеска, г	Объем Ba(OH) ₂ , мл	Время, ч	Расход HCl, мл		Выделение CO ₂ , мг/г·ч
						контроль	опыт	

Определение интенсивности выделения углекислого газа для каждого варианта опыта проводят в трехкратной повторности. Результаты обрабатывают статистически, оформляют в виде табл. 20 и графика. Делают вывод о потере органического вещества в результате окисления у разных видов растений с учетом экологических условий.

Вопросы для обсуждения

1. Особенности показателей, характеризующих интенсивность фотосинтетических процессов растений в условиях вегетационных опытов.

2. Методы определения площади поверхности листьев, содержания углерода, продуктивности фотосинтеза, потери ассимилятов. Значение этих параметров для эколого-физиологических исследований.

3. Оценка фотосинтетической продуктивности по площади листовой поверхности и накоплению органического вещества у растений на разных этапах онтогенеза.

4. Изменение продуктивности разных видов растений в зависимости от экологических условий.

5. Физиологические основы действия внешних и внутренних факторов на фотосинтез и продуктивность растений.

6. Взаимосвязь процесса фотосинтеза с минеральным питанием, водным режимом и дыханием растений.

7. Изучение продуктивности растений в целях оптимизации условий формирования продукции растениеводства.

Рекомендуемая литература

1. Мокроносов А.Т., Гавриленко В.Ф. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М.: Изд-во МГУ, 1992. 320 с.

2. Андрианова Ю.Е., Тарчевский И.А. Хлорофилл и продуктивность растений. М.: Наука, 2000. 135 с.

3. Гавриленко В.Ф., Гусев М.В., Никитина К.А. и др. Избранные главы физиологии растений. М.: Изд-во МГУ, 1986. 440 с.

4. Мокроносов А.Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.

5. Фотоэнергетика растений и урожай. М.: Наука, 1993. 411 с.

Тема 6. Статистическая обработка данных эколого-физиологических исследований

Применение методов математической статистики является необходимым в современных исследованиях по экологической физиологии растений, организации вегетационных опытов. Их использование позволяет объективно оценивать полученные результаты, характеризовать разнообразные связи и зависимости между ними. Понимание и учет статистических закономерностей помогает экспериментатору составить методически обоснованный план опытов и правильно их провести. Эффективность математических методов в практической фитофизиологии существенно повышается при компьютерной обработке результатов с использованием современного программного обеспечения.

Работа 19. Оценка результатов вегетационных опытов методами математической статистики

Цель работы: освоить методы статистической обработки экспериментальных данных по экологической фитофизиологии.

Ход работы

Результаты исследований обычно выражают количественными данными. Повторные анализы или анализы нескольких параллельных образцов дают ряд таких величин - выборку, состоящую из отдельных вариантов. Для характеристики не отдельных образцов, а всей выборки в целом определяют среднюю арифметическую величину по формуле:

$$M = \frac{\sum V}{n},$$

где M - средняя арифметическая; $\sum V$ - сумма вариантов выборки; n - число вариантов.

Основной показатель разнообразия вариантов в выборке - среднее квадратическое отклонение. Его используют в качестве самостоятельного показателя и основы для образования других показателей биометрии - коэффициента вариации, ошибок репрезентативности, коэффициентов корреляции и регрессии, элементов дисперсионного анализа. Среднее квадратическое отклонение - показатель именованный и выражается в тех же единицах, что и средняя величина. Среднее квадратическое отклонение рассчитывают по формуле:

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum (V - M)^2}{n - 1}},$$

где δ - среднее квадратическое отклонение; $(n - 1)$ - число степеней свободы, равное уменьшенному на единицу числу вариантов; M - средняя арифметическая; V - величина каждой варианты.

Ошибку средней арифметической (иногда ее называют средней или средней квадратической ошибкой) вычисляют по формуле:

$$m = \frac{\delta}{\sqrt{n}},$$

где m - ошибка средней арифметической; δ - среднее квадратическое отклонение; n - число вариантов.

Доверительные границы средней арифметической записывают в виде: $M \pm m$. При этом обязательно указывают число вариантов в выборке.

Для сравнения разнообразия различных признаков применяют также особый показатель – коэффициент вариации, вычисляемый по формуле:

$$C_v = \frac{\delta}{M} \cdot 100\%,$$

где C_v – коэффициент вариации (%); δ – среднее квадратическое отклонение; M – средняя арифметическая.

Коэффициент вариации – величина неименованная и позволяет сравнивать разнообразие признаков, выражаемых в различных единицах измерения, а также устанавливать степень их разнообразия. При эколого-физиологических исследованиях бывает важно знать, насколько изучаемый материал разнороден, в какой степени устойчивы взятые для сравнения признаки. Вариацию принято считать незначительной при коэффициенте, не превышающем 10%, средней – от 10 до 20%, значительной – более 20%.

Показатель точности опыта характеризует величину ошибки средней арифметической в процентах от самой средней арифметической. Показатель точности опыта вычисляют по формуле:

$$p = \frac{m}{M} \cdot 100\%,$$

где p – показатель точности опыта; M – средняя арифметическая; m – ошибка средней арифметической.

Точность опыта считается удовлетворительной при величине показателя не выше 5%. При больших значениях рекомендуется увеличить число повторностей. В некоторых случаях можно снизить процент ошибки, повысив точность выполнения исследований.

В физиологических исследованиях необходимо сравнивать между собой варианты опытов по средним арифметическим, определять достоверность их разности. Это позволяет, например, выяснить достоверность разности в продукции растений, выращенных на полной питательной смеси и при исключении одного из элементов. Достоверность разности обусловлена объемом выборки, разнообразием признака и величиной разности.

Достоверность разности средних арифметических вычисляют по критерию Стьюдента:

$$t_d = \frac{d}{m_d} = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} \geq t_{st},$$

где d - разность выборочных средних; m_d – ошибка разности, равная корню квадратному из суммы квадратов ошибок сравниваемых средних; t_{st} - стандартное значение критерия Стьюдента при вероятности 0,95 (табл. 21).

Полученные данные считают достоверными, если критерий достоверности разности равен или превышает стандартное значение критерия:

$$t_d \geq t_{st}.$$

Данные недостоверны, если полученный в исследовании критерий достоверности разности меньше стандартного значения для минимального или требуемого порога вероятности:

$$t_d < t_{st}.$$

Таблица 21

Стандартные значения критериев Стьюдента (t_{st})

Число степеней свободы	Уровень вероятности			
	$B_0 = 0,90$	$B_1 = 0,95$	$B_2 = 0,99$	$B_3 = 0,999$
1	6,3	12,7	63,7	637,0
2	2,9	4,3	9,9	31,6
3	2,4	3,2	5,8	12,9
4	2,1	2,8	4,6	8,6
5	2,0	2,6	4,0	6,9
6	1,9	2,4	3,7	6,0
7	1,9	2,4	3,5	5,3
8	1,9	2,3	3,4	5,0
9	1,8	2,3	3,3	4,8
10	1,8	2,2	3,2	4,6

Вероятности 0,95; 0,99 и 0,999 называют доверительными вероятностями, значениям которых можно доверять и которыми уверенно можно пользоваться. Например, при вероятности 0,99 полученный в опыте результат достоверен в 99% всех случаев, а риск ошибиться в

оценках составляет только 1%. Обычные требования для биологических исследований соответствуют вероятности 0,95. Повышенные требования надежности при проверочных опытах - вероятности 0,99. Высокие требования надежности при разрешении спорных вопросов – 0,999.

Вопросы для обсуждения

1. Использование математических методов при подготовке, проведении и оценке результатов вегетационных опытов по экологической физиологии растений.
2. Значение основных статистических параметров, характеризующих результаты физиологических исследований.
3. Определение ошибки средней арифметической, коэффициента вариации и показателя точности опыта.
4. Оценка достоверности разности средних по критерию Стьюдента. Уровни доверительной вероятности.
5. Особенности статистической обработки результатов вегетационных опытов с использованием компьютерных программ.

Рекомендуемая литература

1. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.
2. Методы биохимического анализа растений / Под ред. В.В. Полевого. Л.: Изд-во ЛГУ, 1978. С. 163-187.
3. Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии. М.: Изд-во МГУ, 1980. 150 с.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
5. Исследование биологических систем математическими методами / Под ред. В.М. Шмидта. Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. 171 с.

Список рефератов

1. Регуляция и интеграция физиологических процессов в растениях как основа продуктивности.
2. Молекулярные и физиологические основы адаптивных процессов растительного организма к факторам внешней среды.
3. Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы стресс-толерантности.
4. Адаптация к комплексному действию природных экологических факторов. Физиология растения в условиях техногенного стресса.
5. Растение как самоорганизующаяся, саморегулирующаяся и саморазвивающаяся адаптивная система.
6. Физиолого-биохимические и экологические аспекты фотосинтеза.
7. Развитие представлений о фотосинтетической продуктивности растений.
8. Транспорт ассимилятов, отложение веществ в запас и донорно-акцепторные системы.
9. Водный режим и минеральное питание.
10. Рост и развитие. Адаптация и устойчивость растений в онтогенезе.
11. Фитогормоны и синтетические регуляторы роста в биотехнологии и растениеводстве.
12. Физиология и биохимия формирования качества продукции растениеводства.

Рекомендуемая литература к рефератам

1. Фаминцын А.С. Обмен веществ и превращение энергии в растениях. М.: Наука, 1989. 637 с.
2. Лебедева Л.А. Физиологические основы питания растений. М.: Изд-во МГУ, 1987. 75 с.

3. Новые направления в физиологии растений / Под ред. А.Л. Курсанова. М.: Наука, 1985. 288 с.
4. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. М.: Наука, 1982. 280 с.
5. Ракитин Ю.В. Химические регуляторы жизнедеятельности растений. М.: Наука, 1983. 260 с.
6. Кретович В.Л. Биохимия растений. М.: Высшая школа, 1986. 503 с.
7. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н.Н. Третьякова. М.: Колос, 2000. 460 с.
8. Физиология продуктивности и устойчивости растений. Казань: Изд-во КГУ, 1985. 113 с.
9. Тихомиров А.А., Лисовский Г.М., Сидько Ф.Я. Спектральный состав света и продуктивность растений. Новосибирск: Наука, 1991. 164 с.
10. Курсанов А.Л. Транспорт ассимилятов в растении. М.: Наука, 1976. 646 с.
11. Регуляция жизнедеятельности растений химическими средствами / Под ред. О.В. Титовой. Ярославль: Изд-во ЯрГУ, 1988. 106 с.
12. Деева В.П., Шелег З.И., Санько Н.В. Избирательное действие химических регуляторов роста на растения. Физиологические основы. Минск: Наука и техника, 1988. 255 с.
13. Бойко Л.А. Регуляторные механизмы процесса развития высших растений. Пермь: Изд-во ПГУ, 1981. 84 с.
14. Химическая регуляция процессов жизнедеятельности растений / Под ред. О.В. Титовой. Ярославль: Изд-во ЯрГУ, 1985. 106 с.
15. Сельскохозяйственная биотехнология / Под ред. В.С. Шевелухи. М.: Высшая школа, 1998. 416 с.
16. Волыне А.П. Взаимодействие эндогенных регуляторов роста и гербицидов. Минск: Наука и техника, 1980. 144 с.
17. Роль температуры и фитогормонов в нарушении покоя семян / Под ред. М.Г. Николаевой. Л.: Наука, 1981. 160 с.
18. Журналы «Физиология растений», «Экология» за последние 5 лет.

Список объектов исследований

Культурные растения

Зерновые: кукуруза (*Zea mays* L.), овес посевной (*Avena sativa* L.), просо обыкновенное (*Panicum miliaceum* L.), пшеница обыкновенная (*Triticum aestivum* L.), рожь посевная (*Secale cereale* L.), ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare* L.).

Зернобобовые: бобы кормовые (*Faba bona* Medik.), вика посевная (*Vicia sativa* L.), горох посевной (*Pisum sativum* L.), козлятник (*Galega officinalis* L.), соя (*Glycine hispida* Moench), фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris* L.), чечевица (*Lens esculenta* Moench), чина посевная (*Lathyrus sativus* L.).

Масличные и технические: лен обыкновенный (*Linum usitatissimum* L.), подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus* L.), рапс (*Brassica napus* L.), цикорий (*Cichorium inthybus* L.).

Овощные: капуста кочанная (*Brassica oleraceae* L.), картофель (*Solanum tuberosum* L.), кресс-салат (*Lepidium sativum* L.), лук репчатый (*Allium cepa* L.), морковь столовая (*Daucus carota* L.), редька (*Raphanus sativus* L.), салат (*Lactuca sativa* L.), свекла столовая (*Beta vulgaris* L.).

Дикорастущие растения

Травянистые: донник белый (*Melilotus albus* Medik.), ежа сборная (*Dactylis glomerata* L.), клевер луговой (*Trifolium pratense* L.), подорожник большой (*Plantago major* L.), пырей ползучий (*Elytrigia repens* (L.) Nevski), тимофеевка луговая (*Phleum pratense* L.).

Древесные: береза повисшая (*Betula pendula* L.), боярышник кроваво-красный (*Crataegus sanguinea* Pall.), ива белая (*Salix alba* L.), клен американский (*Acer negundo* L.), клен плантановидный (*Acer plantanoides* L.), конский каштан обыкновенный (*Aesculus hippocastanum* L.), липа сердцевидная (*Tilia cordata* Mill.), рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.), тополь черный (*Populus nigra* L.), ясень обыкновенный (*Fraxinus excelsior* L.).

Оглавление

Программа и содержание практических работ по экологической физиологии растений	4
Тема 1. Постановка вегетационных опытов.....	4
Работа 1. Водная культура	5
Работа 2. Песчаная культура.....	8
Работа 3. Полевой метод	10
Тема 2. Минеральное питание.....	13
Работа 4. Влияние отдельных элементов питательной смеси на рост надземных органов и корней	13
Работа 5. Влияние условий минерального питания на накопление массы сырого и сухого вещества	14
Работа 6. Определение содержания зольных элементов в разных органах растений.....	16
Тема 3. Рост и развитие.....	19
Работа 7. Влияние pH среды на энергию прорастания и всхожесть семян.....	19
Работа 8. Определение жизнеспособности семян.....	21
Работа 9. Влияние химических регуляторов роста на укоренение растений.....	23
Работа 10. Влияние факторов внешней среды на развитие растений	24
Тема 4. Водный режим	27
Работа 11. Определение водного дефицита при действии на растение различных стрессовых факторов	28
Работа 12. Определение интенсивности транспирации листьев разных ярусов.....	30
Работа 13. Влияние влажности субстрата на оводненность листьев и концентрацию клеточного сока.....	31
Работа 14. Влияние внешних условий на состояние устьиц.....	34
Тема 5. Фотосинтез	36
Работа 15. Определение площади поверхности листьев растений разных видов	37
Работа 16. Определение интенсивности фотосинтеза по изменению содержания углерода в листьях.....	38
Работа 17. Влияние факторов внешней среды на продуктивность фотосинтеза	40

Работа № 18. Определение потери органического вещества по количеству выделенного диоксида углерода	42
Тема 6. Статистическая обработка данных эколого- физиологических исследований	45
Работа 19. Оценка результатов вегетационных опытов методами математической статистики.....	46
Список рефератов	50
Рекомендуемая литература к рефератам	50
Список объектов исследований.....	52

Экологическая физиология растений: вегетационные опыты

Методические указания

Маракаев Олег Анатольевич
Титова Ольга Васильевна

Редактор, корректор В.Н. Чулкова
Компьютерная верстка С.И.. Савинской

Подписано в печать 29.04.2003. Формат 60х84/16.
Бумага тип. Усл. печ. л. 3,25. Уч.-изд. л. 2,31.
Тираж 100 экз. Заказ .

Оригинал-макет подготовлен
в редакционно-издательском отделе ЯрГУ.

Отпечатано на ризографе.

Ярославский государственный университет.
150 000 Ярославль, ул. Советская, 14.