

Пензенский государственный педагогический университет
им. В. Г. Белинского

С. А. Солдатов

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ
ПО ФИЗИОЛОГИИ
И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ**

Часть I

Учебно-методическое пособие для студентов
биологических специальностей вузов

Пенза
2007

Пензенский государственный педагогический университет
им. В. Г. Белинского

С. А. Солдатов

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ
ПО ФИЗИОЛОГИИ
И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ**

Часть I

Учебно-методическое пособие для студентов
биологических специальностей вузов

Пенза
2007

Печатается по решению редакционно-издательского совета
Пензенского государственного педагогического университета
им. В. Г. Белинского

УДК 581.1 (075)

Солдатов, С.А. ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ. Часть I: учебно-методическое пособие для студентов биологических специальностей вузов / Сергей Александрович Солдатов (Пензенский государственный педагогический университет им. В. Г. Белинского). – Пенза, 2007. – 32 с.

Настоящее пособие включает руководство для выполнения лабораторных работ по курсу физиологии растений, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов, а также список рекомендуемой литературы.

Рецензенты: доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой ботаники, физиологии и биохимии растений ПГПУ им. В. Г. Белинского В. И. Хрянин; доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биологии и экологии ПГСХА А. И. Иванов.

© Солдатов С. А., 2007
© Пензенский государственный
педагогический университет
имени В. Г. Белинского, 2007

ДВИЖЕНИЕ ЦИТОПЛАЗМЫ

Движение цитоплазмы – характерная особенность живой растительной клетки, показатель активности процессов ее жизнедеятельности. Это один из наиболее чувствительных показателей функционального состояния клетки. Движение цитоплазмы обеспечивает внутриклеточный и межклеточный транспорт веществ, перемещение органелл внутри клетки. В его осуществлении участвуют элементы цитоскелета – микрофиламенты. Источником энергии этого движения служит АТФ. Скорость движения непостоянна и зависит от внешних условий и состояния клетки.

Цель работы: ознакомиться с методами обнаружения движения цитоплазмы и измерения его скорости, выявить зависимость между температурой и скоростью движения цитоплазмы, показать, что движение цитоплазмы – энергозависимый процесс.

Оборудование и материалы: побеги элодеи, микроскоп, окуляр-микrometer, стаканчики, 3 кристаллизатора, препаровальные иглы, лезвия, пипетки, предметные и покровные стекла, фильтровальная бумага, термометр, горячая и холодная вода, $5 \cdot 10^{-3}$ М раствор АТФ, $5 \cdot 10^{-4}$ М раствор 2,4-динитрофенола (ДНФ) или толуола.

Ход работы

От побега элодеи отделяют 2 листочка из мутовок, расположенных в вегетативной почке или около нее, и помещают их на предметные стекла в каплю воды, взятой из сосуда, в котором находилось растение. Через 10 мин, когда установится стационарный уровень движения цитоплазмы, клетки листа рассматривают под микроскопом на большом увеличении. Выбирают наиболее легко просматриваемые участки (у элодеи это клетки, расположенные у основания листа близ средней жилки) и следят за движением цитоплазмы по движению хлоропластов.

Определяют скорость движения хлоропластов, измеряя при помощи окуляр-микрометра путь, который проходит органелла в единицу времени (контрольный показатель, температура 20°C).

Помещают каплю раствора АТФ в концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ М с одной стороны покровного стекла и одновременно оттягивают фильтровальной бумагой воду из-под стекла с другой стороны. Когда лист окажется в растворе АТФ, определяют скорость движения цитоплазмы. Подобный опыт проделывают, помещая лист в раствор $5 \cdot 10^{-4}$ М 2,4-динитрофенола (ДНФ) или толуола. ДНФ является разобщителем дыхания и фосфорилирования.

Одновременно с первым опытом закладывают опыт по влиянию температуры на скорость движения цитоплазмы. Стаканчики с побегами элодеи с интервалом 5 мин помещают в сосуды с водой различной температуры (+10°C, +37°C, +45°C), и оставляют там на 20 мин каждый, поддерживая нужную температуру. Затем отделяют лист и, положив его на предметное стекло в каплю воды, быстро определяют скорость движения цитоплазмы.

В каждом варианте опыта подсчет производят для 5 оргanelл в 5 клетках. Полученные данные статистически обрабатывают. Для расчета среднего арифметического значения и ошибки среднего пользуются следующими формулами:

$$M = \frac{\sum a}{n}, \quad \sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum (a-M)^2}{n}}, \quad m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}},$$

где M – среднее арифметическое; Σa – сумма отдельных измерений; n – число измерений; σ – среднее квадратичное отклонение; m – ошибка среднего.

Оформление работы

В таблицу заносят среднее арифметическое значение и ошибку среднего. Делают выводы о связи скорости движения цитоплазмы с уровнем жизнедеятельности клетки.

Варианты опыта	Скорость движения, мм/с	Выводы
	$M \pm m$	
H ₂ O, температура 20°C (контроль)		
H ₂ O, температура 10°C		
H ₂ O, температура 37°C		
H ₂ O, температура 45°C		
5·10 ⁻³ М АТФ		
5·10 ⁻⁴ М ДНФ или толуол		

Контрольные вопросы

1. Общая организация типичной растительной клетки. Охарактеризуйте компоненты клетки: протопласт и его производные.
2. Цитоплазма: химический состав и свойства.
3. Что такое цитозоль? Каков его химический состав, свойства и функции?
4. Какое состояние цитозоля называют золем, а какое гелем? Какую роль в клетке играет переход цитозоля из одного состояния в другое?
5. Что такое микрофиламенты, микротрубочки? Какую функцию они выполняют в клетке?
6. Типы движения цитоплазмы в клетке. Какие методы определения скорости движения цитоплазмы вам известны?
7. Какую роль играет в клетке АТФ? Почему при разобщении дыхания и фосфорилирования снижается скорость движения цитоплазмы?
8. Как скорость движения цитоплазмы зависит от внешних условий и состояния клетки?
9. Какими свойствами живой материи обладает клетка?

Занятие № 2.

СВОЙСТВА КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН. ПРОНИЦАЕМОСТЬ ВЕЩЕСТВ В КЛЕТКУ

Все важнейшие проявления жизнедеятельности клетки связаны с цитомембранами. Наружняя цитоплазматическая мембрана – плазмалемма – отделяет клетку от окружающей среды, контролирует транспорт веществ в клетку и из клетки, воспринимает информацию о внешней среде. Внутриклеточные мембраны обеспечивают пространственную упорядоченность многочисленных процессов, протекающих в клетке. Они создают изолированные пространства (компарменты), в которых одновременно могут протекать противоположно направленные процессы. Мембрана вакуоли называется тонопластом. В мембраны встроено большое количество мультиферментных комплексов, транспортных систем, рецепторных молекул, обеспечивающих протекание основных жизненных процессов.

Важнейшее свойство клеточных мембран – избирательная проницаемость, благодаря которой через них проходят молекулы только некоторых веществ. Это свойство может изменяться в за-

висимости от процессов, протекающих в клетке. Избирательная проницаемость мембраны сохраняется до тех пор, пока клетка остается живой. После ее гибели мембраны становятся полностью проницаемыми. Различные химические реагенты и факторы внешней среды могут изменять степень проницаемости мембран.

Цель работы: изучить функциональные особенности мембран живых клеток, определить действие температуры на проницаемость мембран, показать различие свойств плазмалеммы и тонопласта.

Оборудование и материалы: лук репчатый (бесцветный), свекла столовая, микроскоп, фотоэлектроколориметр, кюветы (0,5 см), 2 водяные бани с горячей водой, 2 термометра, пробочное сверло, скальпель, препаровальные иглы, предметные и покровные стекла, пипетки на 10 мл, глазные пипетки, штатив с пробирками, линейки, фильтровальная бумага, марля, 30 %-ный раствор CH_3COOH ; 30 %-ный этанола, 1М (10 %) раствор KNO_3 с эозином, дистиллированная вода.

Ход работы

1. Влияние температуры и состава окружающей среды на проницаемость клеточных мембран. В вакуолях клеток корнеплода столовой свеклы содержится бетаинин – пигмент, придающий ткани корнеплода окраску. Молекулы пигмента относительно большие ($M_r = 564$). Бетаинин хорошо растворим в воде. Чтобы попасть во внешнюю среду, пигмент из клеточного сока должен пройти через тонопласт, основной цитоплазматический матрикс и плазмалемму. Скорость его диффузии напрямую зависит от проницаемости клеточных мембран.

Из корнеплода столовой свеклы вырезают пластину толщиной 1 см, из нее пробочным сверлом выбирают 5 брусочков диаметром до 1 см. Брусочки с помощью лезвия и линейки разрезают на миллиметровые диски, помещают их в марлевые мешочки. В течение 10 мин полученные диски промывают под струей проточной воды для удаления клеточного сока поврежденных клеток, обсушивают фильтровальной бумагой. Диски помещают по 10 штук в пробирки, заполненные следующими жидкостями:

- 1) 10 мл дистиллированной воды (комнатная температура);
- 2) 10 мл дистиллированной воды ($+35^\circ\text{C}$);
- 3) 10 мл дистиллированной воды ($+45^\circ\text{C}$);
- 4) 30 %-ный раствор уксусной кислоты (комнатная температура);
- 5) 30 %-ный раствор спирта (комнатная температура).

Нужная температура жидкости поддерживается при помощи водяной бани. Одновременно закладывается холостой опыт, в котором используются те же жидкости, в том же объеме, находящиеся в тех же условиях, что и в опыте, но без погружения в них дисков свеклы.

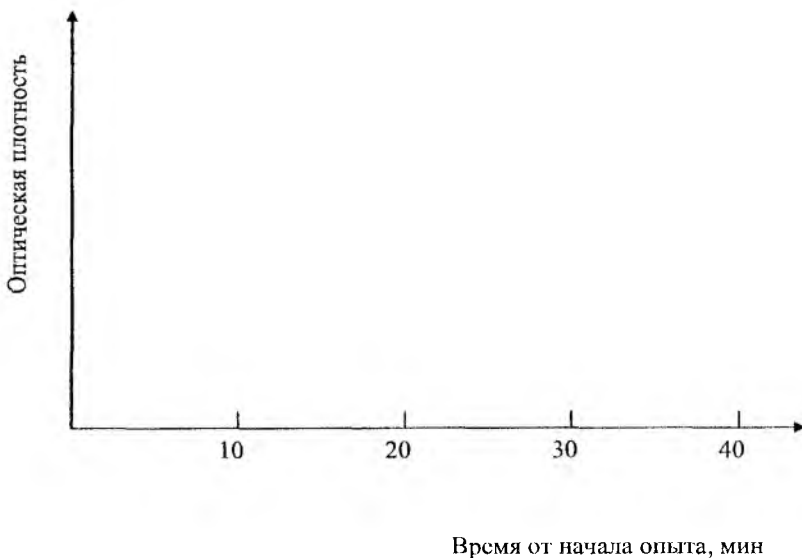
В течение 40 мин через каждые 10 мин в пробирках измеряют выход бетацианина в окружающий раствор. Для этого из опытной пробирки пипеткой отбирают раствор в кювету, измеряют его оптическую плотность и после измерения выливают раствор в ту же самую опытную пробирку, стараясь не терять жидкость. Измерение оптической плотности проводят на ФЭКе с зеленым светофильтром, толщина кюветы 0,5 см. В качестве стандартного раствора используют жидкости из холостого опыта.

2. Обнаружение тонопласта (по Де Фризу). Эпидермис вогнутой (морфологически верхней) стороны чешуи бесцветного лука помещают на предметном стекле в каплю 1М раствора KNO_3 с эозином. Через 3 – 5 мин начинают наблюдения под микроскопом. Клетки находятся в состоянии выпуклого плазмолиза. Хорошо заметно уменьшение объема вакуоли. Вначале цитоплазма окружает вакуоль тонким слоем, но очень быстро начинается ее набухание на полюсах клетки (колпачковый плазмолиз), а затем отмирание цитоплазмы и ядра. Это вызвано проникновением в мезоплазму KNO_3 с эозином. Участки отмершей цитоплазмы, окрашенные в ярко-розовый цвет, хорошо заметны. В течение длительного времени вакуоль остается сократившейся и не окрашенной в розовый цвет. Следовательно, ни KNO_3 , ни эозин не проникают через тонопласт в клеточный сок.

Оформление работы

1. Влияние температуры и состава окружающей среды на проницаемость клеточных мембран. По результатам измерений строят графики зависимости оптической плотности раствора от времени. Делают выводы о влиянии температуры и химического состава окружающей среды на проницаемость клеточных мембран.

Вывод:



2. Обнаружение тонопласта (по Де Фризу). Сравнить проницаемость плазмалеммы и тонопласта для ионов калия и эозина. Объяснить полученные результаты.

Контрольные вопросы

1. Почему мембрану называют универсальной структурной единицей клетки?
2. Из каких веществ состоит универсальная клеточная мембрана? Каковы ее строение, свойства и функции в растительной клетке?
3. Какая разница в понятиях клеточная оболочка и цитоплазматическая мембрана?
4. Каково строение, свойства и функции клеточной стенки?

РАСТИТЕЛЬНАЯ КЛЕТКА КАК ОСМОТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

Вода растительными клетками поглощается по законам осмоса. Перемещение молекул воды из внешней среды в клетку, а также от клетки к клетке происходит по градиенту уровня свободной энергии молекул воды, который определяется их *химическим потенциалом* (Ψ). Точкой отсчета уровня свободной энергии воды берется ее уровень у молекул чистой воды в стандартных условиях (Ψ^0); условно он принят равным 0. Химический потенциал воды в водных растворах и клетках меньше, чем у чистой воды. Разница между химическим потенциалом раствора и химическим потенциалом чистой воды называется *осмотическим потенциалом раствора* ($\Psi_{\text{осм}}$).

Осмотический потенциал определяет способность молекул воды диффундировать, испаряться или поглощаться. Он имеет размерность энергии, деленной на объем, что совпадает с размерностью давления (атмосферы, бары, паскали). $\Psi_{\text{осм}}$ всегда величина отрицательная.

Если два раствора с разными концентрациями разделить полупроницаемой мембраной, пропускающей только молекулы воды, но не пропускающей молекулы растворенных в ней веществ, то молекулы воды будут перемещаться по градиенту Ψ – из раствора с меньшей концентрацией, в котором $\Psi_{\text{осм}}$ выше (т. е. менее отрицательная величина), в раствор с большей концентрацией, в котором $\Psi_{\text{осм}}$ ниже (т. е. более отрицательная величина).

У молекул воды, находящихся под давлением, уровень свободной энергии повышется. Поэтому величина осмотического потенциала раствора или клетки увеличивается при повышении в них *гидростатического (тургорного) давления*. Водный потенциал, зависящий от гидростатического давления (величина всегда положительная), называется *потенциалом давления* ($\Psi_{\text{давл}}$).

Общий *водный потенциал клетки* ($\Psi_{\text{кл}}$) зависит от осмотического потенциала ($\Psi_{\text{осм}}$) и потенциала давления ($\Psi_{\text{давл}}$):

$$-\Psi_{\text{кл}} = -\Psi_{\text{осм}} + \Psi_{\text{давл}}$$

При помещении клетки в чистую воду последняя будет входить в клетку до тех пор, пока $\Psi_{\text{осм}}$ в клетке не будет уравновешено увеличивающимся $\Psi_{\text{давл}}$. Увеличение $\Psi_{\text{давл}}$ происходит из-за

сопротивления клеточной стенки возрастанию объема протопласта при поступлении в него воды.

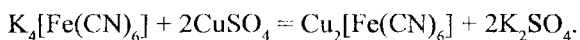
Если клетку поместить в водный раствор, $\Psi_{\text{осм}}$ которого будет более отрицательным, чем $\Psi_{\text{кл}}$, то вода будет выходить из клетки в этот наружный раствор. Выход воды из клетки будет происходить до тех пор, пока Ψ у клетки и у наружного раствора не сравняются.

Цель работы: понаблюдать осмотические явления в искусственной системе, доказать на основании явлений плазмолиза и деплазмолиза, что клетка – осмотическая система, ознакомиться с явлением тургора.

Оборудование и материалы: лук репчатый, корнеплод моркови, микроскоп, предметные и покровные стекла, препаровальные иглы, лезвие, фильтровальная бумага, стаканчики, штатив с пробирками, пипетки, дистиллированная вода, раствор аммиака, раствор нейтрального красного, плазмолитик (сахароза, насыщенный раствор хлорида натрия), 1/2 н раствор CuSO_4 , растворы $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в концентрации 1н, 1/2 н, 1/8 н.

Ход работы.

1. Перемещение воды по градиенту волного потенциала в искусственной «клеточке» Траубе. «Клеточка» Траубе – модель клетки, предложенная исследователем Траубе. Роль полупроницаемой мембраны выполняет гелеобразная пленка гексоцианоферрата (II) меди, образующаяся в ходе реакции:



В три пробирки наливают по 3/4 объема раствора медного купороса с концентрацией соли 1/2 н. Затем в середину раствора очень медленно пипеткой выпускают каплю раствора желтой кровяной соли с концентрацией: 1 пробирка – 1 н, 2 пробирка – 1/2 н, 3 пробирка – 1/8 н. Наблюдают за происходящим.

2. Явление плазмолиза и деплазмолиза. Растительную клетку рассматривают как осмотическую систему, в которой роль осмотически активных веществ играет клеточный сок, а роль полупроницаемой мембраны – цитоплазма. Клеточный сок обладает потенциальным осмотическим давлением, которое прямо пропорционально числу частиц растворенного вещества. Внешний раствор по отношению к клеточному соку может быть гипер-, изо- и гипотоническим. При погружении клетки в гипертонический раствор вода будет выходить наружу до выравнивания осмотических давлений внутреннего и внешнего раствора. При этом

можно наблюдать явление плазмолиза – отхождение протопласта от клеточной стенки из-за уменьшения его объема вследствие выхода воды из клетки в наружный раствор. Плазмолиз проходит следующие стадии: уголковый, вогнутый, выпуклый. Плазмолиз – обратимый процесс. Исчезновение плазмолиза называют деплазмолизом.

Приготовить два среза эпидермиса с нижней (выпуклой) стороны чешуи лука. Окрасить 1 – 2 мин в растворе нейтрального красного. Если в клеточном соке лука содержатся пигменты, то окрашивание проводить не следует. Один срез поместить на предметное стекло в каплю воды, накрыть покровным стеклом и рассмотреть под микроскопом клетки в состоянии тургора. Зарисовать. Второй срез поместить на предметное стекло в каплю раствора аммиака. В первом препарате воду заменить на раствор плазмолитика, для чего с одной стороны покровного стекла нанести каплю раствора, а с другой – приложить кусочек фильтровальной бумаги. Наблюдают за изменениями под микроскопом. Зарисовывают клетки на разных стадиях плазмолиза. Затем раствор плазмолитика заменяют на воду и вновь наблюдают за изменениями в клетках. Обратит внимание на скорость наступления плазмолиза и деплазмолиза. Во втором препарате раствор аммиака заменить на раствор плазмолитика и установить, происходит ли плазмолиз. Объяснить наблюдаемое явление.

3. Тургор растительной клетки. Поступление воды в растительную клетку, помещенную в чистую воду, ограничено клеточной стенкой, растяжение которой не бесконечно. По мере поступления воды в клетку в ней повышается гидростатическое (тургорное) давление. Это увеличивает свободную энергию молекул воды до уровня свободной энергии молекул чистой воды, и водный потенциал клетки ($\Psi_{кл.}$) становится равным нулю. Это полностью насыщенные водой клетки. Если клетки затем поместить в раствор плазмолитика, то вода выходит из клеток, и они теряют тургор.

Из середины корнеплода моркови вырезают, начиная с кончика корня, продольную полосу ткани шириной 8 – 12 мм и удаляют ее. Корнеплод получается разделенным на две части, которые соединяются сверху. Каждую часть корнеплода одновременно опускают в стакан, заполненный: 1 – насыщенным раствором хлорида натрия; 2 – вода. Через час корнеплод извлекают из стаканов, сравнивают размер и тургор тканей в его половинках. Делают выводы.

Оформление работы

1. Перемещение воды по градиенту водного потенциала в искусственной «клеточке» Траубе. Результаты наблюдений занести в таблицу.

Концентрация внешнего раствора, n	1/2	1/2	1/2
Концентрация внутреннего раствора, n	1	1/2	1/8
Изменение объема «клетки»			
Изменение положения «клетки»			
Изменение плотности «клетки»			
Направление движения воды			
Изменение концентрации внешнего раствора			

2. Явление плазмолиза и деплазмолиза. Зарисовать живые клетки на разных стадиях плазмолиза. На рисунках обозначить клеточную оболочку, плазмалемму, цитоплазму, тонопласт, вакуоль, клеточный сок. Сравнить между собой скорость наступления плазмолиза и деплазмолиза. Происходит ли плазмолиз у клеток во втором препарате. Объяснить.

3. Тургор растительной клетки. Сделать рисунок корнеплода моркови и сформулировать вывод о состоянии обеих его частей.

Контрольные вопросы

1. В какой форме находится вода в клетке?
2. Каким образом вода может поступать в растительную клетку?
3. Почему клетку называют осмотической системой?

4. Что такое осмотический потенциал? От каких факторов зависит его величина?
5. Что такое водный потенциал и водный потенциал клетки? Чем равен водный потенциал клетки?
6. Что такое потенциал давления?
7. Чем занято пространство между клеточной стенкой и протопластом в плазмолизированной клетке?
8. Почему клетку нельзя рассматривать только как осмотическую систему?

Занятие № 4.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСУЩЕЙ СИЛЫ КЛЕТОК УПРОЩЕННЫМ МЕТОДОМ (ПО УРШПРУНГУ)

Поступление воды внутрь клетки определяется сосущей силой (S), зависящей от степени насыщения клетки водой. Сосущая сила показывает разницу между осмотическим давлением клеточного сока (P) и тургорным давлением (T). Вода будет поступать в клетку до тех пор, пока осмотическое давление не сравняется по значению с тургорным давлением. Это соотношение описывается следующим равенством:

$$S = P - T.$$

В состоянии полного завядания тургорное давление равно нулю, сосущая сила максимальна и равна осмотическому давлению. При полном насыщении клеток водой тургорное давление достигает своего максимума, а сосущая сила становится равной нулю.

Метод определения величины сосущей силы растительной ткани основан на подборе внешнего раствора известной концентрации, осмотическое давление которого окажется равным величине сосущей силы клеток ткани. В таком, изотоническом, растворе размеры кусочка тканей не изменяются. Данный метод пригоден для крупных паренхиматозных органов со слабо развитыми механическими тканями.

Осмотическое давление рассчитывается согласно уравнению Вант-Гоффа:

$$P = RTC_i, \text{ где}$$

R—универсальная газовая постоянная ($R=0,00831 \text{ кДж}\cdot\text{М}^{-1}\cdot\text{°К}^{-1}$ или $R=0,0821 \text{ латм}\cdot\text{°К}^{-1}$);

T—абсолютная температура, °К, ($T = t + 273\text{°С}$);

C – концентрация раствора, М;
 i – изотонический коэффициент; он отражает степень диссоциации вещества.

Цель работы: познакомиться с методикой определения сосущей силы клеток, определить величины сосущей силы, осмотического и тургорного давлений в зависимости от насыщения клеток водой.

Оборудование и материалы: клубни картофеля, скальпель, линейки, лезвия, штатив с пробирками, пипетки на 10 мл, 1М раствор NaCl, дистиллированная вода.

Ход работы

В 6 пробирках приготовить растворы хлорида натрия убывающей концентрации: 1М; 0,8М; 0,6М; 0,4М; 0,2М; 0,1М. Объем приготовленных растворов должен быть 20 мл. В 7 пробирку наливают 20 мл дистиллированной воды. Из клубня картофеля вырезают пластину толщиной 3 – 4 мм. Пластины нарезают на брусочки шириной 3 – 4 мм и длиной 40 – 70 мм. Измеряют длину брусочков с точностью до 0,5 мм, результаты заносят в таблицу (l_1). Брусочки по одному помещают в пробирки с приготовленными растворами, они должны быть полностью погружены в раствор. Через 30 – 40 мин. брусочки по одному извлекают из растворов и вновь измеряют их длину (l_2). Находят разницу между начальной и конечной длиной брусочков ($l_1 - l_2$) и записывают ее в таблицу. Если длина брусочка увеличилась, то это отмечают знаком «+», если уменьшилась – знаком «-».

Осмотическое давление окружающего раствора ($P_{p-ра}$) рассчитывают по уравнению Вант-Гоффа. Значения изотонического коэффициента (i) для растворов хлорида натрия:

Концентрация NaCl, М	1,0	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Изотонический коэффициент	1,62	1,64	1,66	1,68	1,70	1,73	1,75	1,78	1,83

Исходя из того, что брусочки картофеля достаточно долго пролежали в растворах хлорида натрия и перестали изменяться в длине, следует полагать, что сосущая сила клеток картофеля сравнялась с сосущей силой растворов ($P_{p-ра} = S$).

Степень тургора ткани (сильный, средний, слабый, отсутствует) определяют, раскладывая брусочки на горизонтальную поверхность так, чтобы они наполовину свисали с края.

Для самой короткой полоски величина тургорного давления (Т) равна нулю, а значит осмотическое давление клеточного сока (Р) равно сосущей силе клеток (S):

$$S = P - T, \quad T = 0, \quad P = S.$$

У остальных брусочков клеточный сок имеет меньшую величину осмотического давления, причем осмотическое давление клеточного сока (Р) обратно пропорционально окончательной длине брусочка (l_2):

$$P(1 \text{ брусочка}) \cdot l_2(1 \text{ брусочка}) = P(2 \text{ брусочка}) \cdot l_2(2 \text{ брусочка}) = \\ P(x \text{ брусочка}) \cdot l_2(x \text{ брусочка}),$$

$$\text{или } Px = \frac{P(1) \cdot l_2(1)}{l_2 x}$$

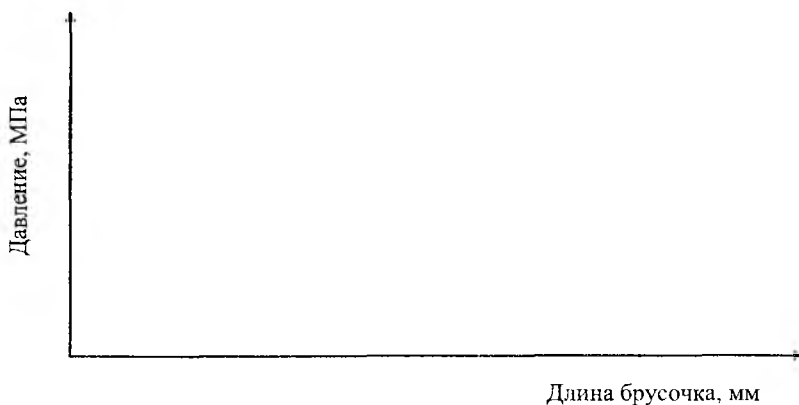
Тургорное давление определяется по формуле: $T = P - S$.

Оформление работы

Результаты измерений и наблюдений заносят в таблицу. По полученным результатам составляют диаграмму, которая отражает зависимости величины сосущей силы от тургорного давления и показывает осмотическое давление. Для этого по оси абсцисс откладывают окончательную длину брусочков (l_2 , мм), начиная с наименьшего значения, по оси ординат – давление, МПа. Сначала на диаграмме строят график зависимости осмотического давления (Р) от длины брусочка (l_2), затем на этой же диаграмме строят график зависимости тургорного давления (Т) от длины брусочка. Значения сосущей силы (S) откладывать не надо, т. к. они представлены отрезками $P - T$.

Концентрация раствора, М		1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0,1	0,0
Приготовление растворов.	Объем дист. воды, мл	0	4	8	12	16	18	20
	Объем 1М раствора NaCl, мл	20	16	12	8	4	2	0
Исходная длина брусочка (l_1), мм								
Окончательная длина брусочка (l_2), мм								

Изменение длины брусочков ($l_1 - l_2$), мм							
Осмотическое давление окружающего раствора ($P_{p-ра}$), МПа							
Сосущая сила клеток (S), МПа							
Тургор							
Осмотическое давление клеточного сока (P), МПа							
Тургорное давление (T), МПа							



Контрольные вопросы.

1. 5 %-е растворы сахарозы и хлорида натрия разделены полупроницаемой мембраной. В какую сторону будет передвигаться вода?
2. У какого раствора – 1М KCl или 1М CaCl₂ – осмотическое давление выше?

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ. СЕМИНАР

Цель занятия: выявить морфологические и физиологические особенности растительных клеток, обобщить знания об органах клетки, их строении и функциях, закрепить представления о клетке как осмотической системе, углубить знания о проникновении воды и минеральных веществ в клетку.

Контрольные вопросы

1. Клетка как основная структурная и функциональная единица живого организма. Особенности строения растительной клетки. Основные компоненты растительной клетки.
2. Химические вещества, входящие в состав клетки и их физиологическая роль: углеводы, липиды, белки, нуклеиновые кислоты. Физико-химические свойства клеточного содержимого.
3. Диффузия. Осмос. Химический потенциал. Осмотическое давление и осмотический потенциал, методы его определения. Осмометры Дютроше и Пфелфера, опыты Вант Гоффа.
4. Поступление воды в растительную клетку. Растительная клетка как осмотическая система, значение осмотического потенциала для функционирования клетки.
5. Сосущая сила. Водный потенциал как мера активности воды, методы его определения и значение. Составляющие водного потенциала.
6. Потенциал давления. Тургорное давление. Тургор, его роль в жизни растения. Матричный потенциал или давление набухания.
7. Плазмолиз и циторриз. Изменение осмотических показателей в зависимости от насыщенности клетки водой, экологических условий и физиологических особенностей растений.
8. Поступление веществ в растительную клетку. Способы проникновения веществ с различными физико-химическими свойствами через мембрану. Физико-химические условия, необходимые для проникновения веществ. Электрохимический, концентрационный, химический потенциалы. Электрохимический градиент.
9. Избирательное поглощение солей. Этапы поглощения солей. Способы проникновения веществ через клеточную стенку, плазмалемму и тонопласт. Мембранные переносчики и каналы. Активный и пассивный перенос. Эндо- и экзоцитоз. Включение ионов в метаболизм, поступление ионов в вакуоль.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДВИЖУЩЕЙ СИЛЫ ПЛАЧА РАСТЕНИЙ МЕТОДОМ Д. А. САБИНИНА

Корневая система растений, поглощая воду из наружной среды, подает ее в надземные органы, что можно обнаружить по явлениям гуттации и плача. Если корневую систему растений погружать в растворы разного осмотического давления, то можно найти раствор, который вызовет остановку плача. Водоудерживающая сила этого раствора (его осмотическое давление) равна движущей силе плача. Д. А. Сабинин предположил существование линейной зависимости скорости плача A от величины движущей силы плача P_x :

$$A = K \cdot P_x,$$

где K – коэффициент пропорциональности, зависящий от размеров корня и его физиологического состояния. При перенесении корневой системы в раствор с осмотическим давлением P_E скорость плача B будет меньше, чем в воде:

$$B = K(P_x - P_E), \text{ отсюда:}$$

$$\frac{A}{B} = \frac{KP_x}{K(P_x - P_E)}$$

За короткий промежуток времени K остается постоянным, тогда

$$P_x = \frac{AP_E}{A - B}$$

Достаточно определить скорость плача при погружении корневой системы в воду и в раствор с известным осмотическим давлением, чтобы найти величину движущей силы плача.

Цель работы: пронаблюдать явление плача у растений, определить движущую силу плача, убедиться, что плач растений – это результат активной нагнетательной деятельности корня, показать зависимость плача от внешних и внутренних факторов.

Оборудование и материалы: 5–7-ми дневные растения подсолнечника, водяная баня, электрическая плитка, кристаллизатор со льдом, кристаллизатор с водой комнатной температуры, термометр, штативы, градуированные капилляры, большие воронки, резиновые трубки, зажимы, лезвия, нитки, 0,03 М раствор сахарозы комнатной температуры, дистиллированная вода комнатной температуры.

Ход работы

В водяную баню помещают воронку. На узкий конец воронки надевают резиновую трубку, свободный конец трубки закрывают зажимом. В воронку наливают дистиллированную воду. Температура воды в водяной бане, дистиллированной воды в воронке и раствора сахарозы в колбе должна быть одинаковой.

При помощи лезвия отделяют надземные части растения на расстоянии 2 см от корневой шейки, корневую систему опускают в широкий сосуд с водой. Под водой на пенек надевают отрезок эластичной резиновой трубки, во второй конец которой вставляют градуированный капилляр. Резиновая трубка должна быть заполнена водой без пузырьков воздуха. Капилляр заполняется водой наполовину так, чтобы образовался мениск жидкости. Для прочности соединения резиновую трубку, надетую на пенек растения, обвязывают прочной нитью. Соединение должно быть герметично, однако не должно повреждать растения. Корневую систему переносят в воронку с дистиллированной водой, закрепляют в лапке штатива градуированный капилляр, соединенный с растением.

Измеряют скорость движения мениска в пипетке, т. е. скорость плача (А). Делают несколько измерений за короткие промежутки времени (1–3 мин) и подсчитывают среднее значение.

Как только скорость плача станет постоянной, сливают воду из воронки и наливают раствор сахарозы. Сразу же начинают измерять скорость плача (В). Как только она станет постоянной, опыт заканчивают.

Скорость плача определяют при комнатной температуре, при 35°C, при 10°C.

Оформление работы

Рассчитать величину осмотического давления раствора сахарозы ($P_{\text{ос}}$, атм.) и величину движущей силы плача проростков подсолнечника ($P_{\text{х}}$, атм.) при разных температурах. Сделать вывод о зависимости скорости плача растений от температуры.

Вывод:

Контрольные вопросы

1. Что такое корневое давление? Какова его роль в жизни растения?
2. Каков механизм возникновения корневого давления?
3. Как зависит корневое давление от энергетического обмена растений?
4. Почему растения слабо поглощают воду из холодных почв? Как называется это явление?
5. Что такое плач растений? Как его можно обнаружить?
6. Что такое гуттация? У каких растений, и в каких условиях она бывает?
7. Какие особенности в строении корня важны для поступления воды?

Занятие № 7.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ТРАНСПИРАЦИИ ВЕСОВЫМ МЕТОДОМ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ТРАНСПИРАЦИИ

Процесс испарения воды надземными частями растений называется транспирацией. Наибольшую часть воды выделяет лист, который является основным транспирирующим органом растения. Вода испаряется с поверхности клеток мезофилла листа в межклетники и оттуда улетучивается через устьичные щели в атмосферу. Испарение воды может происходить и через кутикулу (кутикулярная транспирация). Доля кутикулярной транспирации зависит от возраста, физиологического состояния листа и вида растения. Интенсивность транспирации – это масса воды, испаренная единицей листовой поверхности за единицу времени.

Хотя суммарная площадь устьичных отверстий редко превышает 2 % поверхности листа, но относительная транспирация со-

ставляет более 50 %. Относительная транспирация – это интенсивность транспирации с единицы листовой поверхности, отнесенная к интенсивности испарения с равной по величине свободной водной поверхности.

Цель работы: провести сравнительный анализ интенсивности транспирации растения и физического испарения воды со свободной поверхности.

Оборудование и материалы: растение герани, весы технические с разновесами, настольные лампы, ножницы, лезвия, скальпели, штативы, пробирки с закрепленной проволочной петлей, чашки Петри, глазные пипетки, линейки, миллиметровая бумага, фильтровальная бумага, растительное масло, вода комнатной температуры..

Ход работы

Листья с черешками отделить от растения, обвести контур листовой пластинки простым карандашом на миллиметровой бумаге. Лист поместить в пробирку с проволочной петлей у горлышка, заполненную водой. Срез черешка обновить под водой. Чтобы исключить испарение воды, в пробирку добавить несколько капель растительного масла. Смонтированный прибор должен быть сухим. Прибор взвешивается на технических весах (M_1). Пробирку поместить на хорошо освещенное место при комнатной температуре. Время экспозиции составляет 1 час (t).

Для определения испарения со свободной поверхности в чашку Петри налить воды столько, чтобы она полностью закрывала дно чашки, взвесить на технических весах (e_1). Чашку поместить в те же условия, что и пробирку с листом герани. Время экспозиции составляет 1 час (t).

Определить площадь листовой поверхности (S листа). Для этого взвесить квадрат из миллиметровой бумаги (M квадрата) с известной площадью (S квадрата). Вырезать из миллиметровой бумаги обведенный по контуру лист и взвесить его (M листа).

$$S \text{ листа} = \frac{S \text{ квадрата} * M \text{ листа}}{M \text{ квадрата}}$$

Рассчитать площадь чашки Петри, предварительно определив ее радиус (R).

$$S \text{ чашки Петри} = \pi R^2.$$

По окончании экспозиции взвесить прибор с листом (M_2) и чашку Петри (e_2).

Интенсивность транспирации (T) рассчитывается по формуле:

$$T = \frac{(M_1 - M_2) * 60}{\text{Листа} * t}$$

Интенсивность испарения (E) рассчитывается по формуле:

$$E = \frac{(e_1 - e_2) * 60}{\text{Счажки Петри} * t}$$

Вычислить относительную транспирацию (O):

$$O = \frac{T}{E}$$

Оформление работы

Рассчитать интенсивность транспирации листа, интенсивность испарения со свободной водной поверхности, относительную транспирацию. Объяснить, почему значение относительной транспирации настолько велико по сравнению с суммарной площадью устьичных отверстий (до 2 %).

Контрольные вопросы

1. В чем состоит роль транспирации в жизни растений? Как зависит интенсивность транспирации от экологических условий?
2. Чем отличается транспирация от испарения воды со свободной поверхности?
3. Какие существуют методы определения и единицы измерения транспирации?

Занятие № 8.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ УСТЬИЦ

Устьица участвуют в регуляции газообмена и транспирации. Они состоят из двух замыкающих клеток и устьичной щели. Движение устьиц обусловлено особенностями анатомического строения замыкающих клеток. Их стенки неравномерно утолщены,

поэтому при увеличении тургора устьица открываются. В основе динамики тургора замыкающих клеток лежит изменение их осмотического давления.

Важную роль в работе устьичного аппарата играет работа калиевых ионных насосов, обеспечивающих перераспределение калия между замыкающими клетками устьиц и соседними эпидермальными клетками. Увеличение осмотического давления в замыкающих клетках при открывании устьиц связано с поступлением в них калия, закрывание устьиц происходит при выходе калия из замыкающих клеток.

Цель работы: познакомиться с механизмом работы устьичного аппарата, выяснить роль калия в этом процессе, рассчитать количество устьичных щелей на 1 мм^2 эпидермиса листа и их относительную площадь.

Оборудование и материалы: растения традесканции (одно – выдержанное в темноте в течение 24 ч, другое – находившееся не менее 2 часов на ярком свете), микроскоп, окуляр-микрометр, предметные и покровные стекла, чашки Петри, бюксы, лезвия, препаровальные иглы, глазные пипетки, фильтровальная бумага, дистиллированная вода, охлажденная бидистиллированная вода, лед, 50 %-ный глицерин, насыщенный раствор сульфида аммония, охлажденная среда инкубации.

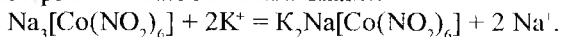
Приготовление среды инкубации: растворяют 20 г нитрата кобальта и 35 г нитрата натрия в 75 мл подкисленной бидистиллированной воды (10 мл ледяной уксусной кислоты доводят до 75 мл бидистиллятом). Смесь фильтруют и доводят бидистиллятом до 100 мл. Хранится в холодильнике до 1 мес.

Ход работы

1. Механизм открывания и закрывания устьичных щелей.

Приготовить срез эпидермиса листа традесканции, положить его на предметное стекло в раствор глицерина, накрыть покровным стеклом и наблюдать закрывание устьиц. Глицерин заменяют на воду и отмечают открывание устьиц.

2. Наблюдение за перераспределением калия при движении устьиц. Содержание калия в замыкающих и прилегающих к ним клетках эпидермиса можно определить гистохимически кобальтнитритным методом. Метод основан на взаимодействии кобальтнитрита натрия с ионами калия в ткани:



При этом образуется желтый кристаллический осадок соли $\text{K}_2\text{Na}[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$. Для более четкого обнаружения препарат обраба-

тывают сульфидом аммония, что приводит к образованию в местах локализации калия коричневого осадка сульфида кобальта.

В качестве объекта исследования следует использовать растения с хорошо развитым устьичным комплексом, например традесканцию. Перед началом опыта одну часть растений поливают и выставляют на яркий свет на 1,5 – 2 ч, другую – выдерживают в темноте до полного закрывания устьиц. На нижней стороне подготовленных к опыту листьев острой бритвой под прямым углом к центральной жилке делают поверхностные надрезы через 2 – 3 мм и срезают в этом же направлении небольшие участки эпидермиса. Подготовленные эпидермальные полоски на 1 – 2 мин помещают в чашки Петри с охлажденной бидистиллированной водой для удаления внесклеточного калия. Затем полоски переносят на 5 мин в бюкс с охлажденной инкубационной средой и снова промывают в чашке Петри охлажденной бидистиллированной водой 2 – 3 мин. Так как кристаллы натриево-калиевой соли кобальтоазотистой кислоты при комнатной температуре относительно растворимы, чашки Петри с водой и бюкс с инкубационной средой помещают в сосуд со снегом или льдом. Подготовленные препараты просматривают под микроскопом в смеси 50 %-ного глицерина и насыщенного раствора сульфида аммония (1:1).

3. Определение числа устьичных клеток на единицу площади листа. В работе можно использовать микропрепарат эпидермиса листа из первого опыта. Подсчитывают количество устьиц в поле зрения микроскопа при большом увеличении. Подсчет делают 3 раза и рассчитывают среднее арифметическое значение. При помощи окуляр-микрометра определяют площадь поля зрения в мм². Количество устьичных клеток (K) на 1 мм² листа составляет:

$$K = (K_{\text{п.зр.}} \cdot 1\text{мм}^2) / \Pi_{\text{п.зр.}}, \text{ где}$$

$K_{\text{п.зр.}}$ – количество устьиц в поле зрения,

$\Pi_{\text{п.зр.}}$ – площадь поля зрения, мм².

4. Определение отношения площади устьичных щелей к площади листа. При большом увеличении микроскопа определяют длину и ширину устьичных щелей с помощью окуляр-микрометра. Подсчет ведут в трехкратной повторности. Рассчитывают среднюю длину и среднюю ширину щели. Площадь устьичной щели (мм²) определяют по формуле:

$$S = \pi a b,$$

где $\pi = 3,14$; a и b – малая и большая полуоси эллипса, т. е. половина ширины и длины устьичной щели.

Относительную площадь устьичных щелей (O) рассчитывают по формуле и выражают в процентах:

$$O = K \cdot S \cdot 100 \%$$

Оформление работы.

1. Механизм открывания и закрывания устьичных щелей.
Схематично отобразить механизм устьичных движений.

2. Наблюдение за перераспределением калия при движении устьиц. Зарисовать локализацию калия в замыкающих и прилегающих к ним клетках эпидермиса при открытых и закрытых устьицах. Сделать выводы.

3 – 4. Заполнить таблицу:

Измеряемые показатели	Варианты опыта			
	1	2	3	среднее
Количество устьиц в поле зрения микроскопа, шт				
Площадь поля зрения, мм ²				
Количество устьичных клеток на 1 мм ² листа				
Длина устьичной щели, мм				
Ширина устьичной щели, мм				
Площадь устьичной щели, мм ²				
Относительная площадь устьичной щели, %				

Контрольные вопросы

1. Выделите основные отличия в строении устьиц однодольных и двудольных растений.
2. Каково соотношение количества воды, испаряемой через устьица и со свободной водной поверхности той же площади? Чем это объясняется?
3. Какие типы движения устьиц Вам известны? Каков их механизм? Как влияют фитогормоны на состояние устьиц?
4. Происходит ли транспирация при закрытых устьицах и у безлистных побегов?

Занятие № 9.

ВОДНЫЙ РЕЖИМ РАСТЕНИЙ. СЕМИНАР

Цель занятия: закрепить знания, полученные на лабораторно-практических занятиях при изучении данной темы, углубить представления о водном режиме растений, усвоить сведения о водном стрессе и засухоустойчивости растений.

Контрольные вопросы

1. Структура и свойства воды. Физико-химические свойства и биологические функции воды. Значение воды в жизни клетки и организма. Свободная и связанная вода. Распределение и формы воды в растении. Водный баланс растения.
2. Понятие о транспирации, ее значение. Строение листа как органа транспирации. Строение и функционирование устьичного аппарата. Устьичная и кутикулярная транспирация. Этапы устьичной транспирации. Правило Стефана. Устьичная и внеустьичная регуляция транспирации.
3. Движение устьиц, его механизмы и зависимость от внешних и внутренних условий.
4. Влияние внешних условий на транспирацию. Суточный ход движения устьиц и транспирации. Методы учета и единицы измерения транспирации.
5. Поступление воды в растение. Корневая система как орган поглощения воды, возникший в ходе эволюции. Способность надземных органов к поглощению воды. Механизмы поглощения воды. Вода в почве. Корневое давление, его механизм и значение. Гуттация и плач растений. Нижний концевой двигатель.
6. Передвижение воды по растению. Апопласт и симпласт. Особенности строения и функционирования ксилемы и флоэмы.

Концевые и промежуточные двигатели. Влияние внешних условий на водный режим.

7. Физиологические основы устойчивости растений к засухе. Виды засухи. Водный дефицит, временное и глубокое завядание. Водный стресс и изменение физиолого-биохимических процессов при обезвоживании. Причины гибели растений от недостатка воды.

8. Водный обмен растений различных экологических групп.

9. Засухоустойчивость растений. Физиологические особенности засухоустойчивых растений. Ксероморфная структура, закон Заленского. Изменение засухоустойчивости в ходе онтогенеза.

10. Способы повышения засухоустойчивости. Физиологические основы орошения.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ К ЗАЧЕТУ

1. Физиология как теоретическая и экспериментальная наука. Роль отечественных ученых в развитии физиологии растений. Значение физиологии растений в растениеводстве.
2. Успехи биологической науки в целом и их отражение в физиологии растений.
3. Основные группы органических веществ в растении (углеводы, НК, белки, жиры), их превращение.
4. Строение ДНК, ее роль в передаче наследственной информации.
5. Особенности синтеза белка в клетке.
6. Ферменты, их роль в обмене веществ. Основные свойства ферментов. Классификация ферментов.
7. Химические и физические свойства цитоплазмы и клеточной оболочки.
8. Клеточные органеллы и их функции.
9. Основные фазы роста клетки.
10. Физиологическая роль воды в растении.
11. Растительная клетка как осмотическая система. Понятие осмотического давления.
12. Осмотическое давление, его величина и методы измерения.
13. Понятие о сосущей силе. Осмотическое и неосмотическое поступление воды в растительную клетку.
14. Транспирация растений, ее роль, методы изучения, единицы измерения.
15. Особенности строения листа как органа транспирации. Устьичная и кутикулярная транспирация. Внеустьичная регуляция транспирации.
16. Влияние внешних условий на процесс транспирации у растений.
17. Корневое давление. Явление гуттации и плача. Механизм корневого давления.
18. Передвижение воды по растению. Верхний и нижний концевой двигатель водного тока в растении.
19. Формы воды в почве. Доступная и недоступная для растений вода. Понятие – «мертвый запас», «коэффициент завядания».
20. Физиологические методы определения нужды растений в поливе. Влияние на растение недостатка влаги. Физиологическая природа засухоустойчивости растений.
21. Ксероморфная структура. Закон Заленского.
22. Характеристика различных групп растений по их водному режиму — гигрофиты, мезофиты, ксерофиты.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Баславская, С. С. Практикум по физиологии растений / С. С. Баславская, О. М. Трубецкова. – М.: Изд-во МГУ, 1964. – 328 с.

Кузнецов, В. В. Физиология растений / В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. – М.: Высш. шк., 2006. – 736 с.

Медведев, С. С. Физиология растений / С. С. Медведев. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2004. – 336 с.

Нефедьева, Е. Э. Физиология растительной клетки. Водный режим. Минеральное питание растений: лабораторный практикум / Е. Э. Нефедьева. – Пенза: Изд-во ПГПУ им. В. Г. Белинского, 2000. – 45 с.

Полевой, В. В. Физиология растений / В. В. Полевой. – М.: Высш. шк., 1989. – 464 с.

Практикум по росту и устойчивости растений / под ред. В. В. Полевого, Т. В. Чирковой. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2001. – 212 с.

Практикум по физиологии растений / под ред. Н. Н. Третьякова, Т. В. Карнаухова, Л. А. Паничкина и др. – М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с.

Сказкин, Ф. Д. Летние практические занятия по физиологии растений / Ф. Д. Сказкин и др. – М.: Просвещение, 1973.

Якушкина, Н. И. Физиология растений / Н. И. Якушкина, Е. Ю. Бахтенко. – М.: Гуманитар. изд. центр ВЛАДОС, 2005. – 463 с.

ДЛЯ ЗАМЕТОК

СОДЕРЖАНИЕ

Занятие №1. Движение цитоплазмы.....	3
Занятие №2. Свойства клеточных мембран. Проницаемость веществ в клетку.....	5
Занятие №3. Растительная клетка как осмотическая система	9
Занятие №4. Определение сосущей силы клеток упрощенным методом (по Уршпрунгу).....	13
Занятие №5. Физиология растительной клетки. Семинар.....	17
Занятие №6. Определение движущей силы плача растений методом Д.А. Сабинина	18
Занятие №7. Определение интенсивности транспирации весовым методом. Определение относительной транспирации	20
Занятие №8. Изучение состояния устьиц	22
Занятие №9. Водный режим растений. Семинар.....	26
Перечень вопросов к зачету	28
Рекомендуемая литература.....	29

Пензенский государственный педагогический университет
им. В. Г. Белинского

Сергей Александрович Солдатов

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ
ПО ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ.
ЧАСТЬ I**

*Учебно-методическое пособие
для студентов биологических специальностей вузов*

Пособие издается в авторской редакции
Технический редактор – Л. И. Дорошина
Верстка — О. В. Сиротин
Корректор — Е.С. Моисеева

План ПГПУ 2007 г. (Поэ. 182)

Подписано к печати 24.09.2007. Формат 60x84/16.
Бумага писчая белая. Уч.-изд. л. 2. Усл. печ. л. 1,86.
Тираж 100 экз. Заказ № 132/07. Цена С. 131.



Издательство ПГПУ им. В. Г. Белинского.
440026, Пенза, ул. Лермонтова, 37. Корп. 5. Комн. 466

Типография ПГПУ им. В. Г. Белинского
440026, Пенза, ул. Лермонтова, 37. Корп. 8. Комн. 311

