



Міністерство освіти і науки України
ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет агрономії та захисту рослин

Кафедра землеробства і гербології ім. О.М. Можейка

«Фізіологія рослин з основами біохімії»



**Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт
для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі
спеціальності 202 «Захист і карантин рослин»**

Харків – 2024

Міністерство освіти і науки України

ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет агрономії та захисту рослин
Кафедра землеробства та гербології ім. О.М. Можейка

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН З ОСНОВАМИ БІОХІМІЇ

Методичні вказівки
до виконання лабораторних робіт
для здобувачів денної та заочної форм навчання
першого (бакалаврського) рівня вищої освіти, спеціальності
202 «Захист і карантин рослин»

Затверджено рішенням
Навчально-методичної
комісії факультету
агрономії та захисту рослин
Протокол № ___ 15 ___
від ___ 18 квітня ___ 2024__р.

Харків 2024

Схвалено

на засіданні кафедри землеробства та гербології ім. О.М. Можейка

Протокол №_1__ від __30.01_ 2024 р.

Рецензенти:

Забродіна І.В., кандидат с.-г. наук , доцент кафедри зоології, ентомології, фітопатології, інтегрованого захисту і карантину рослин ім. Б.М. Литвинова

Лиманська С.В., кандидат біологічних наук, доцент кафедри генетики, селекції та насінництва ХНАУ ім. В.В. Докучаєва

Ф 50 Фізіологія рослин з основами біохімії: методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Фізіологія рослин з основами біохімії» для здобувачів зі спеціальності 202 «Захист і карантин рослин» першого (бакалаврського) рівня вищої освіти. Державний біотехнологічний університет . Х.: ДБТУ, 2024. 75 с.

У методичних вказівках викладені лабораторні роботи з фізіології та біохімії рослин на теми: фізіологія рослинної клітини (будова і функції клітинних органел, осмотичні властивості рослинних клітин), обмін речовин (хімічний склад рослинної клітини: білки, вуглеводи, ліпіди, ферменти), фотосинтез, дихання, мінеральне живлення, водний обмін та стійкість рослин до стресових факторів. Надане теоретичне пояснення фізіологічних і біохімічних процесів. Наведено перелік матеріалів, реактивів, обладнання для виконання лабораторних робіт та хід їх виконання. Враховано, що методичні рекомендації призначені для здобувачів спеціальності «Захист і карантин рослин», та наведено поглиблений теоретичний матеріал та лабораторні роботи за темою стійкість рослин. Після кожної теми наведені контрольні запитання.

Відповідальна за випуск : Г.А. Лугова, к.б.н.

УДК 581.1:577.1](072)

© Державний біотехнологічний університет, 2024

© Лугова Г. А.2024

ЗМІСТ

Вступ	6
Тема 1. Фізіологія рослинної клітини	8
1.1. Структурна організація рослинної клітини	9
1.2. Осмотичні властивості рослинної клітини	21
1.3. Явище плазмолізу та деплазмолізу в рослинних клітинах	22
1.4. Визначення проникності цитоплазми за дії температури та токсичних речовин	23
1.5. Визначення всисної сили рослинних клітин методом. Вимірювання відрізків (за М.Ф. Лілієнштерн)	25
<i>Контрольні запитання</i>	26
Тема 2. Обмін речовин (хімічний склад рослинних клітин)	27
2.1. Вуглеводи	27
2.2. Якісні реакції на вуглеводи	29
2.2.1. Реакція Тромера	29
2.2.2. Гідроліз крохмалю	29
2.2.3. Реакція крохмалю з йодом	29
2.3. Визначення вмісту сахарози в коренеплодах цукрових буряків	29
2.4. Білки та їх властивості	30
2.5. Якісні реакції на білки	32
2.6. Жири, ліпіди	33
2.7. Доказ нерозчинності жирів у воді і одержання стійкої емульсії	33
2.8. Ферменти	33
2.9. Вивчення специфічності дії амілази слини та сахарози дріжджів	34
2.10. Визначення активності каталази в рослинному матеріалі	34
2.11. Визначення активності пероксидази у рослинному матеріалі	36
<i>Контрольні запитання</i>	37
Тема 3. Фотосинтез	38
3.1. Хімічні властивості пігментів листка	40
3.2. Розподіл пігментів за методом Крауса	42
3.3. Омилення хлорофілу лугом	43
3.4. Добування феофітину і зворотна заміна гідрогену атомом металу	43
3.5. Розподіл пігментів адсорбційним хроматографічним методом	44
<i>Контрольні запитання</i>	45
Тема 4 Мінеральне живлення рослин	46
4.1. Визначення нітратів	49
4.2. Визначення фосфатів	51
4.3. Визначення калію	51
4.4. Мікрохімічний аналіз золи	52
4.5. Антагонізм іонів	54
<i>Контрольні запитання</i>	55
Тема 5 Дихання	56

5.1. Визначення дихального коефіцієнта у різних рослин	57
<i>Контрольні запитання</i>	60
Тема 6 Водний обмін	61
6.1. Визначення стану продохів методом інфільтрації за Г. Молішем	65
6.2. Визначення інтенсивності транспірації та відносної транспірації ваговим методом	66
<i>Контрольні запитання</i>	67
Тема 7 Ріст і розвиток рослин	68
7.1. Перетворення речовин під час проростання насіння	68
<i>Контрольні запитання</i>	70
Тема 8 Стійкість рослин до несприятливих умов зовнішнього середовища	71
8.1. Визначення жаростійкості рослин за методом Ф.П. Мацкова	71
8.2. Визначення водного дефіциту рослин	72
<i>Контрольні запитання</i>	73
Список рекомендованої літератури	74

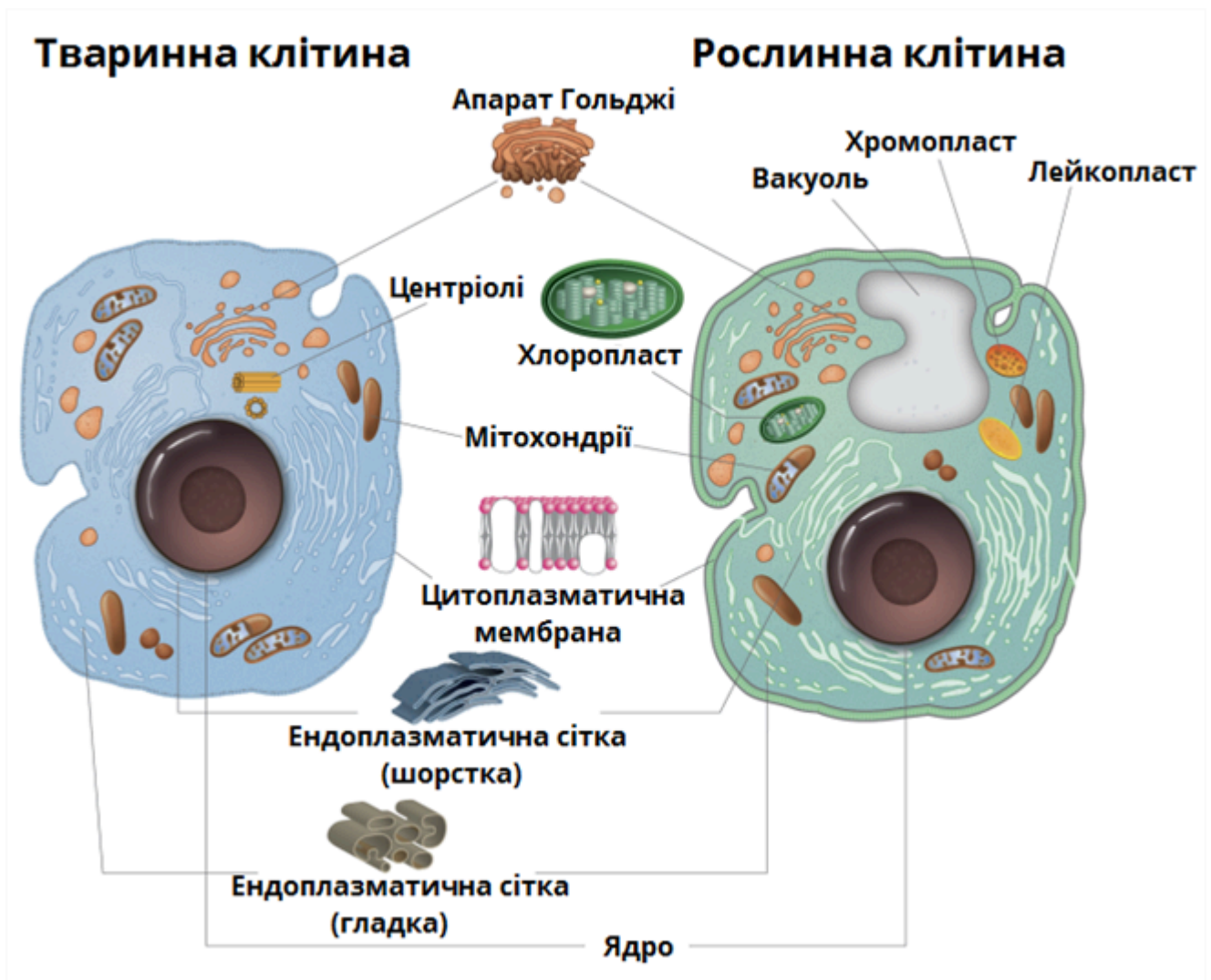
Вступ

Фізіологія рослин – це наука, яка вивчає процеси життєдіяльності рослинних організмів, відкриває можливості пізнання змін, які відбуваються в них під впливом природних і антропогенних чинників, є теоретичною основою інтенсивних технологій вирощування сільськогосподарських культур і забезпечує обґрунтований своєчасний контроль та управління ростом і розвитком рослин, формування врожаю та його якості. Якщо детальніше фізіологія рослин оснований на закономірностях життя рослин у зв'язку з умовами їх існування і розробляє шляхи керування ними з метою оптимізації продуктивності культурних рослин та їх збереження. Усю сукупність хімічних процесів та хімічний склад рослин, які складають життєдіяльність рослинного організму, вивчає біохімія рослин. Ці дві науки органічно пов'язані між собою і тому їх вивчення у комплексі цілком обґрунтоване та закономірне. Дисципліна “Фізіологія рослин з основами біотехнології” є теоретичною основою для вивчення наступних дисциплін: агрохімія, землеробство, рослинництво, кормовиробництво, овочівництво, плодівництво, селекція, насінництво, лісівництво, фітопатологія, ентомологія, інтегрований захист рослин, технологія зберігання та переробки продукції рослинництва та ін. Методологія навчання з фізіології та біохімії рослин оснований на уявленнях про рослинний організм як складну саморегульовальну систему і викладається на різних структурних рівнях – від макромолекул до цілої рослини. Метою навчальної дисципліни є вивчення фізіологічних та біохімічних процесів рослинного організму (перетворення енергії, обмін речовин, сприйняття сигналів з зовнішнього середовища та утворення захисних механізмів рослинного організму) в онтогенезі та їх залежності від зовнішніх факторів, що є теоретичною основою технології вирощування, зберігання та переробки сільськогосподарської продукції та фізіологічних основ біотехнології.

Вивчаючи фізіологію рослин, слід особливу увагу звертати на те, що необхідно формувати в студентів, як майбутніх спеціалістів, фундаментальні знання із структурно - функціональної організації рослинних систем різних рівнів, основні закономірності життєвих функцій рослин та їх механізмів, уміння управляти продукційним процесом сільськогосподарських культур. В результаті вивчення дисципліни студент повинен знати: - принцип дії первинних механізмів, на яких базуються фізіологічні процеси, їх координація і регуляція в зв'язку з навколишнім середовищем: біохімічні та фітометричні показники посівів основних сільськогосподарських культур, динаміку зміни оптимальних значень основних фізіологічних показників в процесі росту і розвитку рослин та методи контролю і управління продукційним процесом формування високої врожайності посівів: фізіологічні основи біотехнології в рослинництві. Студент повинен вміти: - оцінювати фізіологічний стан рослин і створювати всі умови для успішного їх росту, розвитку та формування максимально можливого врожаю та якісної продукції за конкретних умов господарства: використовувати основні фізіологічні показники рослин для створення структуризованої бази даних, що характеризує потоки і елементи

системи “грунт-рослина-клімат-продуктивність”; - визначати основні біохімічні і фітометричні показники окремої рослини і посіву загалом, а також градієнт лімітуючих факторів їх росту і розвитку. Мета навчальної практики – сформувати в студентів вміння самостійно досліджувати найважливіші параметри росту і розвитку рослин та агрофітоценозів за природних умов.

ТЕМА 1. ФІЗИОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ



Структурною та функціональною одиницею рослинного організму, як і інших живих істот, є клітина. **Клітина** – елементарна структурно-функціональна одиниця всіх живих організмів, яка має власний метаболізм, здатна до самостійного існування, самовідтворення і розвитку. К. можуть існувати як самостійні елементарні біологічні системи (природні – найпростіші організми і бактерії, штучні – популяції культивованих *in vitro* клітини багатоклітинних організмів), а також у складі багатоклітинних тварин, рослин та грибів.

За сучасним уявленням, клітина — це основна структурно-функціональна одиниця всіх живих організмів, елементарна жива система. Лише віруси являють собою неклітинні форми життя.

Рослинна клітина є функціональною структурною одиницею живої матерії, так як для неї властиві наступні особливості:

Обмін речовин та енергії, здатність до росту та самовідтворення, збереження та передача спадкової інформації.

1.1. Структурна організація рослинної клітини

Згідно сучасних уявлень, рослинна клітина складається з трьох основних частин - оболонки, протопласта і вакуолі. Клітинна оболонка відносно жорстка, складна у хімічному відношенні і є продуктом діяльності протопласта. Протопласт, тобто жива частина клітини, є колоїдним розчином із розміщеними у ньому структурними компонентами (ядро, пластиди, мітохондрії, ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі, рибосоми). Вакуолі - це неживі утворення, заповнені розчинами неорганічних солей, поглинутих клітиною, і органічних речовин - продуктів метаболічної діяльності клітини. Розміри клітин варіюють дуже широко (від одного до декількох сотень мікронів). Морфологічні відмінності клітин зумовлені характером біологічних процесів і типом обміну речовин. У молодих клітин близькі поздовжні і поперечні розміри, тонка оболонка. Вони повністю заповнені протопластом. З часом, зі збільшенням об'єму клітини, кількість протопласта поступово зростає, у ньому утворюється багато малих вакуоль, які поступово зливаються в одну велику; оболонка потовщується.

Протопласт ззовні і зсередини оточений поверхневими біологічними мембранами: від клітинної стінки його відокремлює **плазмалема**, від вакуолі - **тонопласт**.

Протопласт і клітинна оболонка не ізольовані повністю. Вони сполучаються за допомогою спеціалізованих отворів - пор. Через пори в оболонці за допомогою цитоплазматичних тяжів (плазмодесм) протопласт одних клітин з'єднується з протопластом інших. Таким чином, завдяки мембранним утворенням і плазмодесмам усі клітини об'єднані. Плазмодесми за своєю будовою нагадують трубочки діаметром від 20 до 100 нм. У кожній плазмодесмі існує канал (десмотрубочка), по якому різні речовини можуть переходити від однієї клітини до іншої.

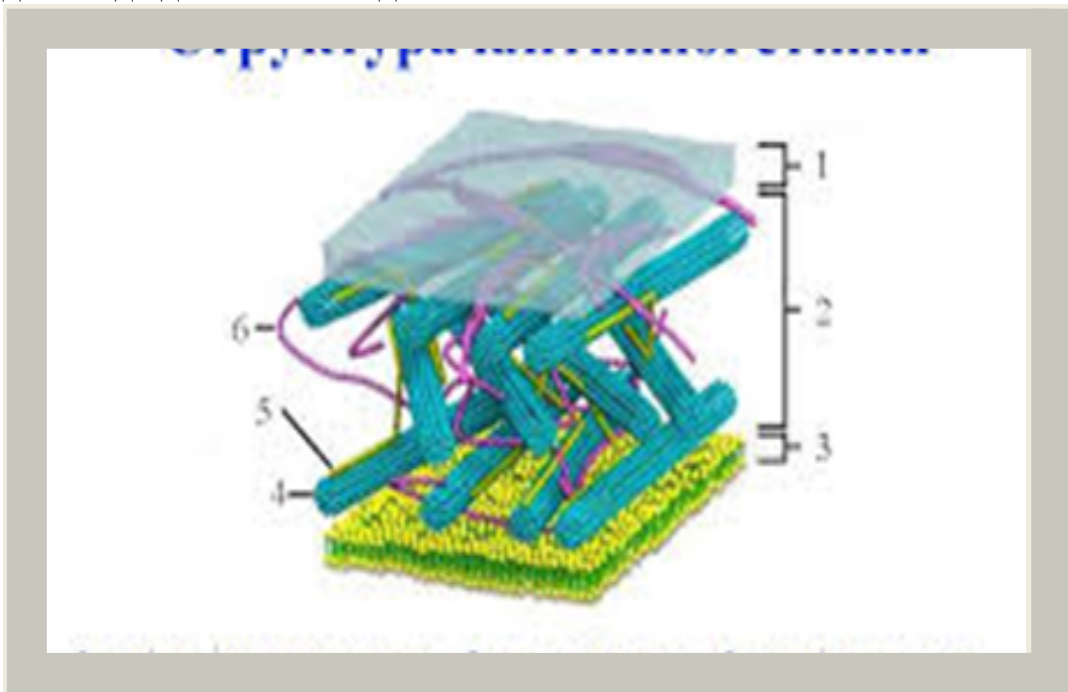


Рис. 1. Клітинна стінка, її склад, будова і функції

Оболонка клітини утворюється з продуктів секреторної діяльності протопласта, які послідовно нашаровуються у процесі розвитку клітини. Головною складовою клітинної стінки є целюлоза (клітковина - $(C_6H_{10}O_5)_n$). Молекули целюлози - це нерозгалужені ланцюжки, які складаються із залишків D-глюкопіранози, поєднаних між собою глікозидними (В1-4)-зв'язками. У середньому одна молекула целюлози містить до 8000 залишків глюкози.

Між оболонками сусідніх клітин існує серединна пластинка, яку утворюють спочатку студневидні пектинові речовини, але пізніше вона доповнюється целюлозою та іншими полісахаридами і набуває жорсткості. У здрев'янілих клітин оболонка насичена лігніном.

Первинна оболонка клітини складається з целюлозних мікрофібрил, занурених у основну речовину - матрикс. Завдяки проміжкам між фібрилами клітинна стінка має достатню гнучкість. Здатність клітинної стінки розтягуватися залежить від характеру розміщення целюлозних фібрил. При безладному їх розміщенні оболонка розтягується рівномірно в усіх напрямках. Якщо ж фібрили розміщені паралельно, то розтягування відбувається під прямим кутом до осі. Під час формування клітини зовнішня оболонка зазнає сильного тиску з боку протопласта, розтягується, і при цьому до неї додається новий будівельний матеріал - відбувається її ріст і потовщення. У деяких клітин, наприклад мезофілу, формування клітинної оболонки завершується, як тільки клітина досягає своєї максимальної величини. В інших тканинах у клітин, що закінчили свій ріст, із внутрішнього боку утворюється вторинна клітинна оболонка із жорсткою структурою. Таке потовщення оболонки скорочує об'єм протопласта. З часом весь протопласт відмирає повністю, залишаються лише порожнисті циліндри з клітинних оболонок, що виконують механічну функцію або функцію провідних тканин.

Вторинна клітинна оболонка пронизана численними порами. Дільниця оболонки з порами досить тоненька, складається лише із серединної пластинки і первинної клітинної стінки.

У зрілих живих клітин пори представлені канальцями, що з'єднують внутрішню частину вторинної клітинної стінки і зовнішню частину первинної. Пори можуть розміщуватись групами, утворюючи порові поля, які відіграють важливу роль у пропусканні води, розчинів мінеральних і пластичних речовин.

Функції клітинної оболонки:

Клітинна оболонка є секреторним продуктом протопласту і в зрілій клітині, ймовірно, нежива. Однак в ній є білки, серед яких і ті, що мають ферментативну активність.

Клітинна оболонка забезпечує окремим клітинам і рослині в цілому механічну міцність і опору.

Вона визначає розмір, форму та стабільність рослинної клітини, захищає протоплазматичну мембрану від руйнування в разі дії гідростатичного тиску, що формується всередині клітини.

Клітинна оболонка є протиінфекційним бар'єром, бере участь в поглинанні, транспортуванні та виділенні речовин. Систему поєднаних одна з одною клітинних оболонок називають *апопласт*, який слугує головним шляхом

для пересування води і розчинених речовин по рослині. Через пори в клітинних оболонках проходять цитоплазматичні тяжі, які зв'язують вміст окремих клітин, тобто об'єднують всі протопласти в одну систему — *симпласт*.

Є дані, що вуглеводні компоненти клітинної оболонки, взаємодіючи із фітогормонами, викликають фізіологічні зміни у клітині.

Цитоплазма, її будова і властивості.

Протопласт - це колоїдна система. У живій клітині вона перебуває у постійному русі, завдяки якому забезпечується оптимальне розміщення органел, краще протікання біохімічних реакцій, видалення продуктів обміну у вакуолу і за межі клітини тощо. Основу протопласта складає цитоплазма, також сюди входить ядро.

Цитоплазма - напіврідка прозора і в'язка гомогенна маса, розташована під клітинною оболонкою переважно у вигляді відносно тонкого пристінного шару. Хімічний склад цитоплазми (вода - 75-85%, білки та амінокислоти - 10-12%, вуглеводи - 4-6%, жири і ліпіди - 2-3%, інші органічні речовини - близько 1%, мінеральні речовини - 2-3%) сприяє утворенню колоїдного розчину, який не змішується з водою і речовинами вакуолей.

Цитоплазмі властива еластичність і досить висока густина. Наприклад, у клітинах паренхіми кори бобів її в'язкість у 24 рази вища, ніж у води.

В'язкість цитоплазми є неоднорідною. Периферійна частина її, яка прилягає до оболонки, більш в'язка і відділяється від неї поверхневою мембраною - плазмалею. З боку вакуолі цитоплазма відокремлена другою поверхневою мембраною - *тонопластом*. Між цими мембранами знаходиться з меншою в'язкістю внутрішній шар цитоплазми - мезоплазма, яка є цитоплазматичним матриксом, що пронизаний ендоплазматичною сіткою (внутрішньою мембраною). У цитоплазматичному матриксі постійно відбуваються процеси обміну речовин. Вважається, що цитоплазма містить фібрилярні структурні елементи, які сприяють формуванню гелей.

У структурній і функціональній організації цитоплазми виключно важливе значення має вода. Властивості її, як розчинника і речовини, що має велике біологічне значення, визначаються особливостями її внутрішньо-молекулярної структури, насамперед, полярністю молекули. Ця полярність зумовлена несиметричним розміщенням електронів водню і кисню у молекулі і відповідно - нерівномірним розподілом позитивних і негативних зарядів.

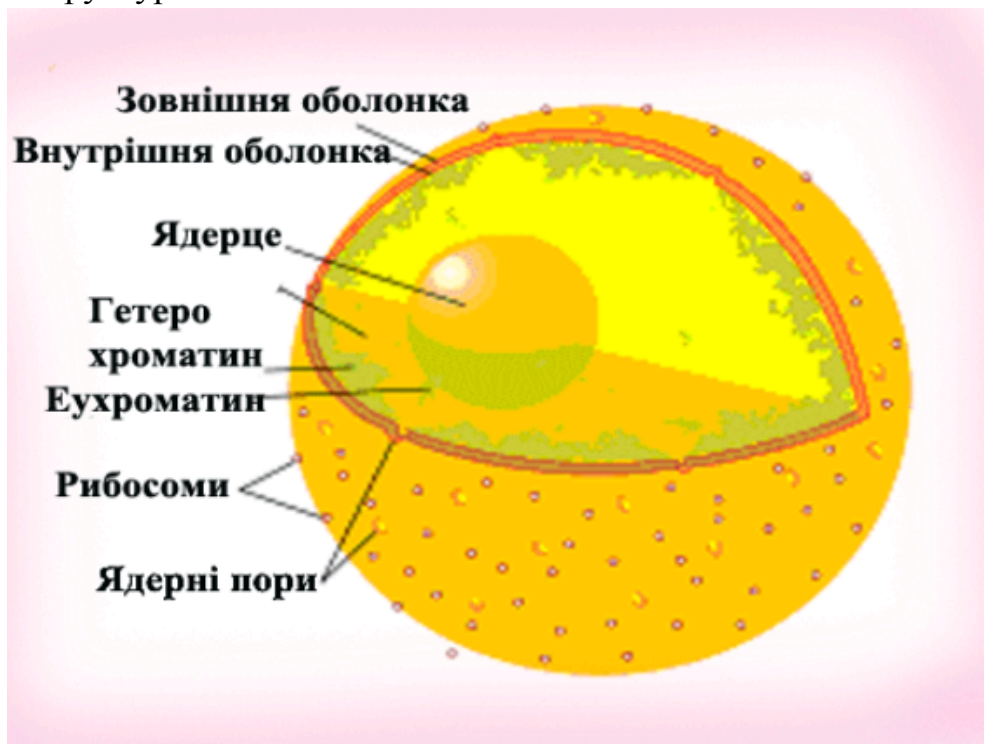
Ядро, його будова і функції.

Центральною і найважливішою органелою клітини є ядро, яке має досить складну структуру. Форма його здебільшого кулеподібна або овальна. Розмір коливається у досить широких межах.

У ядрі зосереджена генетична інформація у відповідних структурних одиницях - хромосомах. Їх переплетіння утворює цілісну масу - *хроматин*. Крім того, ядро має одне або кілька ядерць. Простір між ядерними структурами заповнює безбарвна речовина - *каріоплазма, або нуклеоплазма*.

Зверху ядро оточене мембраною пористої структури, що має рибосоми та за допомогою елементів ендоплазматичної сітки сполучена з мембранами інших

клітинних структурних компонентів.



Внутрішня мембрана подекуди випинається всередину ядра. На 1 мкм ядерної оболонки може бути від 10 до 100 пор діаметром до 20 нм кожна. Пори ядра - динамічні структури, які періодично закриваються та відкриваються, регулюючи обмін речовин між ядром і цитоплазмою.

Внутрішня будова ядра змінюється залежно від його стану. Розрізняють два періоди в житті ядра — метаболічний (між поділом) та період поділу. В метаболічний період в ядрі є одне або декілька *ядерець*, які складаються з міцно переплетених ниток — *нуклеонеми* і містять до 80 % білка, 10.- 15 % РНК і незначну кількість ДНК. Ядро заповнене нуклеоплазмою і переплетеними, скрученими хроматиновими нитками. Хроматин складається із ДНК, гістонових і негістонових білків, незначної кількості РНК і ліпідів. Характерною рисою метаболічного періоду ядра є процес самовідтворення (подвоєння) молекул ДНК — реплікація. Лише після цього ядро переходить до поділу, тобто мітозу. В інтерфазному ядрі хромосоми мають вигляд досить безформених скупчень хроматину, що набубнявіли. Перед початком поділу ядра кожна хромосома складається з двох хроматид, які в анафазі діляться. Надалі у новій клітині хроматида подвоюється і є хромосомою з повним набором генетичної інформації. *Хромосоми*, або *хроматин*, в еукаріотів складаються з чотирьох видів молекул: 1) ДНК (близько 35%); 2) РНК (близько 12%); 3) лужного низькомолекулярного білка - гістону (близько 40%); 4) кислого негістонового білка, у тому числі ферментів (близько 10%) і незначної кількості ліпідів, полісахаридів та іонів металів.

Функції:

Контроль за синтезом білків і життєдіяльністю клітини. Збереження та передача генетичної інформації дочірнім клітинам у процесі поділу клітин. Ядро оточене подвійною ядерною мембраною і має в своєму складі хроматин,

ядерця та нуклеоплазму.

Ядерце

Ядерце - це округле утворення високої щільності, яке не має мембран. Воно складається з більш компактного, ніж ядро матеріалу, містить рибонуклеїнову кислоту (15%) і білки (80%). У ядерці містяться у великій кількості субодиниці рибосом. Ці рибонуклеопротеїдні гранули разом з рибонуклеопротеїдними ниткоподібними структурами (фібрилами) занурені у нуклеоплазму. У ядерці синтезуються численні рибосомні білки-гістони, накопичується РНК перед виходом до цитоплазми. Ядерцева рибосомальна РНК і білки об'єднуються у рибосомні субодиниці. Крім того, у ядерці збираються інші типи РНК (транспортна РНК). Тому воно є місцем перерозподілу РНК.

Функції:

Синтез ядерних білків. Ймовірно, що в них синтезується і певна кількість специфічних рибосомальних білків.

У ядерці можливе також самоскладання рибосом. У разі руйнування ядерця, наприклад ультрафіолетовим випромінюванням, ядро втрачає здатність до поділу.

Біологічні мембрани

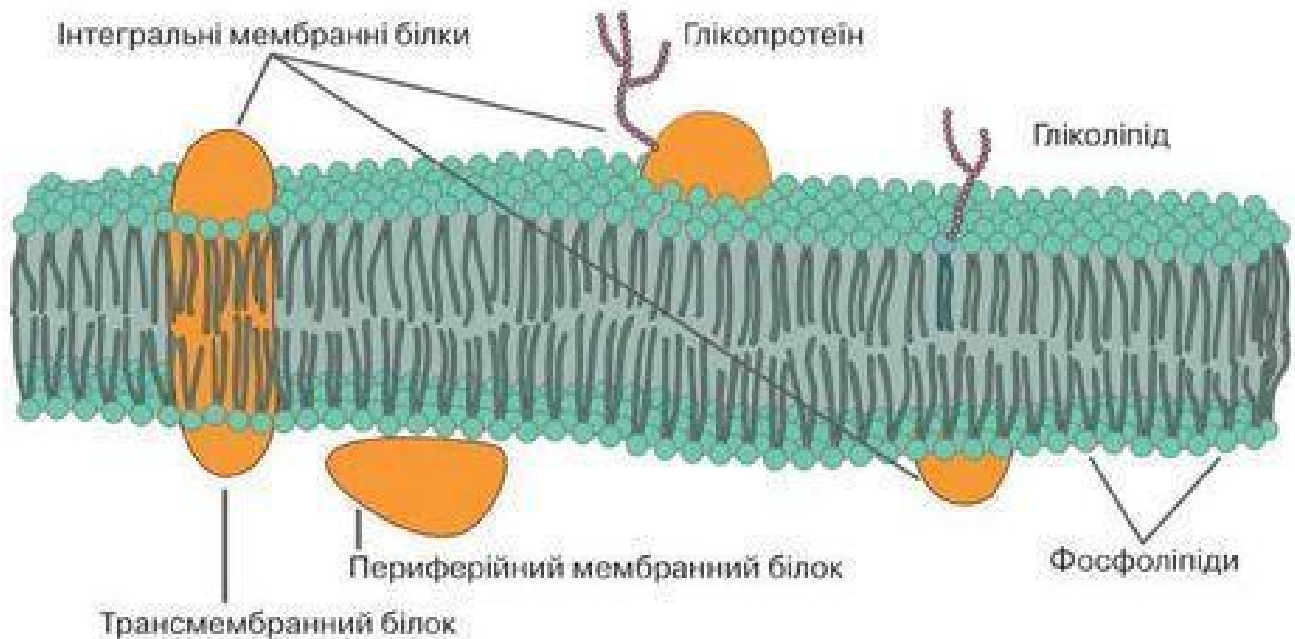


Рис. 2. Схема будови плазматичної мембрани

Протопласт зовні та зсередини обмежений відповідними мембранами: **плазмалема** відокремлює його від клітинної оболонки, а **тонопласт** — від вакуолі. Розрізняють також мембрани ядра, мітохондрій, пластид, субодиниць апарату Гольджі, а також внутрішні мембрани цитоплазми — ендоплазматичного ретикулу, мітохондрій і хлоропластів. *Мембрани* — високоорганізовані структури клітин, склад яких залежить від типу і функції мембрани, але завжди в них є ліпіди та білки.

У 1959 р. англійський вчений Д. Робертсон висунув гіпотезу щодо будови «елементарної» мембрани, в якій постулював структуру — спільну для всіх біологічних мембран. Згідно з цією гіпотезою всі мембрани мають вигляд

тришарової структури, в якій центральний ліпідний подвійний шар розташований між двома шарами білка загальною товщиною 7,5 нм. У 1972 р. англійські вчені С. Зінгер і Г. Ніколсон запропонували рідинно-мозаїчну модель мембрани, за якою молекули білків у ліпідах утворюють щось чиє до мозаїки.

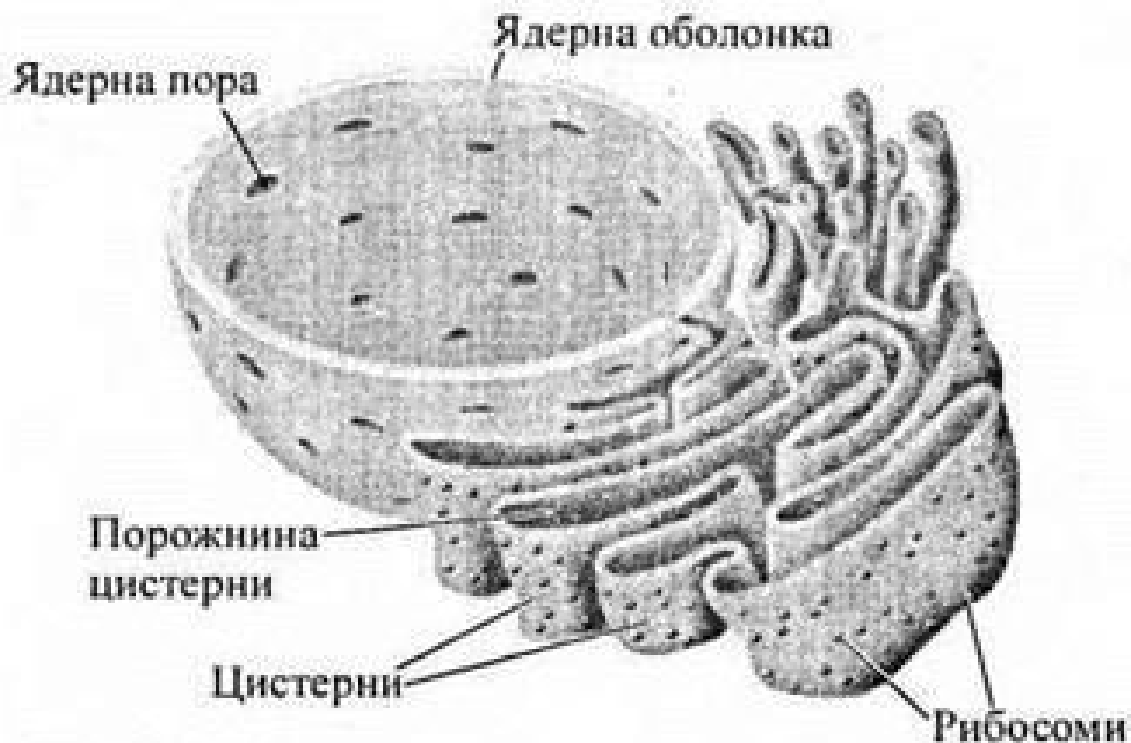
Ліпіди в мембранах представлені фосфоліпідами, гліколіпідами та стеролами. Основу ліпідного шару складають фосфоліпіди, галактоліпіди, жирні кислоти, стерини. Ймовірно, ліпідний шар пронизують білкові молекули, які можуть бути зв'язані своїми гідрофобними бічними ланцюгами з внутрішніми гідрофобними частинами молекул ліпідів. Гранули внутрішніх ділянок мембран найчастіше є білками, які гідрофобно закріплені в ліпідному матриксі мембрани.

Функції:

Біологічні мембрани розділяють цитоплазму на відсіки, в яких відбуваються певні біохімічні перетворення.

Лабільна структура мембран дає їм змогу, в свою чергу, виконувати найрізноманітніші функції: бар'єрну, осмотичну, транспортну, електричну, структурну, енергетичну, біосинтетичну, секреторну, рецепторно-регуляторну та інші.

Ендоплазматична сітка



Ендоплазматичний ретикулум (сітка) — це складна тривимірна мембранна система, форма і протяжність якої визначається типом клітини та стадією її диференціювання. В трьох вимірах вона має пластинчасту будову і складається з багатьох мембранних мішечків — цистерн, на поверхні яких за допомогою електронного мікроскопа можна виявити численні гранули діаметром до 30 нм — рибосоми, де відбувається синтез білка. Через таку будову часто називають **шорстким** ендоплазматичним ретикулумом (ЕР).

Клітини, де відбувається інтенсивний синтез ліпідів, мають інший досить

розгалужений гладенький трубчастий ендоплазматичний ретикулум. Обидва типи ЕР можуть бути одночасно навіть в одній клітині, причому між ними існує взаємозв'язок.

Функції:

Ендоплазматичний ретикулум має велике значення в біогенезі клітинних мембран, оскільки є основним місцем синтезу як мембранних білків, так і ліпідів клітин. В ЕР локалізовані кінцеві етапи синтезу мембранних ліпідів, зокрема гліколіпідів і фосфоліпідів. Останні забезпечують процес формування мембран мітохондрій і хлоропластів.

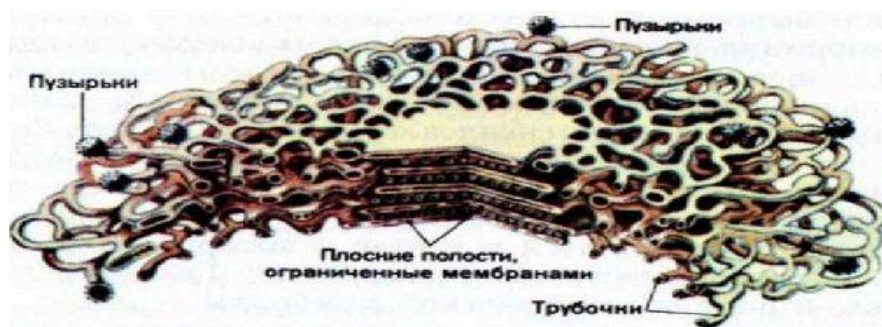
В ЕР відбувається біосинтез стероїдів, синтез усіх ненасичених кислот: саме тут синтезуються властиві лише рослинам жирні кислоти — *лінолева, ліноленова, арахідонова*. Похідними мембран ЕР є мембрани вакуолі, сферосом, мікротілець тощо. Ретикулум безпосередньо пов'язаний з ядерною оболонкою. Через мембранну систему АГ він бере участь в синтезі компонентів плазмалеми. Перехід мембран в різні види органел дістав назву потік мембрани. Існує уявлення про взаємодію мембранних компонентів клітин як концепцію ендомембранної системи, згідно з якою потік мембран пояснює функціональну неперервність мембран і участь їх у життєдіяльності всіх органел клітини.

Ендоплазматичний ретикулум є екстенсивною системою мембран, яка поділяє вміст еукаріотичної клітини на компартаменти і канали. Він формує одне ціле із зовнішньою мембраною ядерної оболонки.

Шорсткий ЕР забезпечує синтез і транспортування білків крізь мембрану, тоді як гладенький ЕР відповідальний за синтез ліпідів та інші біосинтези. Функції шорсткого ЕР пов'язані із транспортуванням білків, синтезованих рибосомами на його поверхні. На початку синтезу білків початкову частину синтезованого поліпептидного ланцюга становить так звана сигнальна послідовність, яка за своєю конфігурацією відповідає специфічному рецептору на мембрані ЕР. Рецептор утворює канал, по якому білок переходить в цистерни ЕР для подальшого транспортування. В процесі перенесення білок зазнає істотних змін, наприклад, фосфорилується, ацетилюється, перетворюється на глікопротеїни тощо.

Апарат Гольджі

Апарат Гольджі



Ця мембранна органела представлена трьома видами утворів: дископодібними мембранними мішечками (цистернами), розміщеними пучками

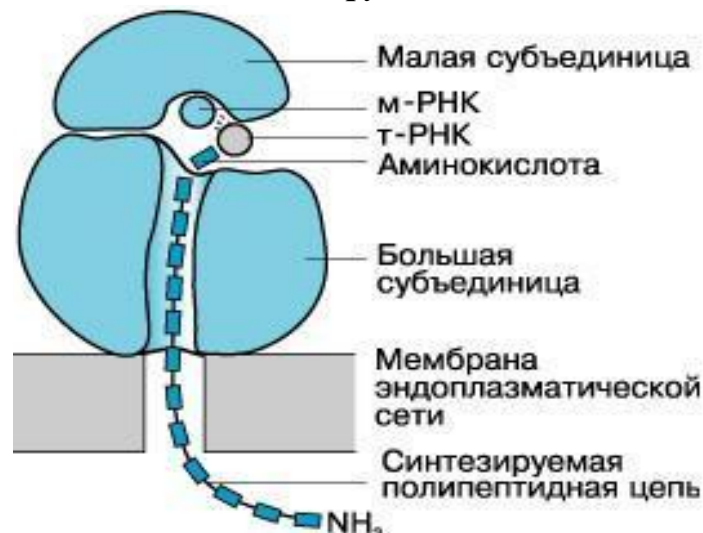
щільно на відстані 14-25 нм з внутрішнім простором 5-20 нм (частіше по 5-6 мішечків у комплексі); системою трубочок діаметром 20-50 нм; і міхурців різних розмірів. Мішечки сполучаються між собою і мають трубчове з'єднання з іншими такими ж апаратами. У рослинних клітинах виявляється ряд окремих стопок, який називають диктіосою. Диктіосоми можуть бути відділені одна від одної прошарками цитоплазми або з'єднаними у комплекс. В тваринних клітинах часто міститься одна велика або кілька з'єднаних трубками стопок.

Функції:

Сортує утворені в клітині молекули, упаковує їх у пухирці, оточені мембраною.

У цистернах апарату Гольджі дозрівають білки призначені для секреції, трансмембранні білки плазматичної мембрани, білки лізосом і т. д. Білки, що досягають, послідовно переміщуються по цистернах органели, де відбуваються їх модифікації — глікозилування і фосфорилування.

Рибосоми, їх хімічний склад та функції



Рибосоми — це дрібні сферичні частинки діаметром 0,2 мкм, які складаються в основному з високомолекулярної РНК (до 60 %) і білка. Рибосомальна (рРНК) синтезується в ядерці. Через самоскладання РНК разом із білком утворюють складну тривимірну структуру. Рибосома складається з малої (40S) і великої (60S) субодиноць. Мала містить одну 18S РНК і до 40 молекул білків, а велика субодиноця — по одній молекулі 5S РНК; 5,8S РНК; 25S РНК і до 45 молекул білків. В кожній клітині їх кілька десятків тисяч. Рибосоми можуть бути прикріплені до ЕР або вільно локалізовані в цитоплазмі. Є вони також і в ядрі, пластидах, мітохондріях. Тому розрізняють два типи рибосом: цитоплазматичні — з коефіцієнтом седиментації 80S (константу седиментації вимірюють в одиницях Сведберга, 1S=10⁻¹³ с) і рибосоми органел з коефіцієнтом 70S. Рибосоми досить часто утворюють комплекси — *полірибосоми*, які формуються поетапно з окремих субодиноць

Функції:

Рибосоми відповідають за синтез білка в клітині. Послідовність амінокислот у синтезованих на рибосомах білкових молекул визначається

особливими молекулами матричної, або інформаційної РНК (**мРНК**), які переносять інформацію від геному ядра до рибосом. Мітохондрії та хлоропласти мають власний геном. Під час синтезу білка на рибосомах амінокислоти, з яких синтезується поліпептидний ланцюжок, приєднуються послідовно одна за одною. Таким чином, у синтезі білка беруть участь **мРНК**, яка несе генетичну інформацію, транспортна **тРНК**, яка постачає до рибосомі необхідні амінокислоти, і поліпептидний ланцюг, що нарощується. Необхідні також фактори, які відповідають за *ініціацію*, *елонгацію* та *термінацію* поліпептидного ланцюга. Під час синтезу білка в активному стані більшість рибосом прикріплюються до довгих ниткоподібних молекул мРНК, утворюючи в присутності іонів магнію полірибосоми. Це дає змогу одночасно синтезувати кілька десятків молекул одного й того самого білка.

Хлоропласти, їх будова та функція



Пластиди - це продукти життєдіяльності рослинної клітини. Вони утворюються з *пропластид* - маленьких амебовидних тілець (d 0,05-0,5 мкм), які беруть початок від ініціальних часток, що відокремлюються від ядра і містять нуклеоплазму. У рослинних клітинах містяться три типи пластид: *лейкопласти* (безбарвні), *хлоропласти* (зелені) і *хромoplastи* (оранжеві). Сукупність пластид прийнято позначати поняттям "*пластидом*".

Пластиди всіх трьох типів можуть взаємно перетворюватися. Наприклад, лейкопласти перетворюються у хлоропласти при позеленінні картоплі на світлі, у темряві хлоропласти втрачають зелене забарвлення і перетворюються в лейкопласти, при дегенерації хлоропластів і розпаді хлорофілу можуть утворюватися хромoplastи.

Хлоропласти мають зелене забарвлення, що зумовлюється наявністю в них автономність, яка полягає у здійсненні біосинтезу ряду білкових і ліпідних компонентів. Специфічна ДНК пластид відрізняється від ДНК ядра. Експериментально підтверджено її синтез безпосередньо у пластидах. У хлоропласті міститься близько 5% усієї клітинної ДНК. Вміст її змінюється залежно від фізіологічних умов. Число, розміри, форма і розміщення ділянок

локалізації ДНК та їхня морфологія відрізняються у хлоропластів різних видів рослин.

Важливе значення у розвитку хлоропластів належить світлу, що необхідне для синтезу хлорофілів. Молекули хлорофілів локалізуються у внутрішніх мембранах, які формують два типи намел, занурених у гідрофільний білковий матрикс або *строми*. Одні з них тягнуться вздовж всієї пластиди – *ламелі, строми*, а інші - коротші, розташовуються одна над одною, утворюючи *грані*. За відсутності світла замість ламел формується проламелярне тіло — впорядкований центр пухирців і каналів. Проламелярними їх назвали для того, щоб підкреслити, що вони — попередники ламел. Після стимуляції світлом структури проламелярних тіл змінюють свою орієнтацію і швидко трансформуються в систему ламелярних мембран.

Пластиди, які містять проламелярні тіла, називають етіопластами. їх можна розглядати як певну стадію розвитку хлоропластів. Етіопласти утворюються в первинних листках або сім'ядолях паростків до того, як вони вийдуть із ґрунту на світло. У квіткових рослин хлоропласти із пропластид розвиваються лише на світлі, тоді як у деяких голонасінних це перетворення відбувається і за його відсутності.

Кожен хлоропласт оточений подвійною мембраною з вибірковою проникною здатністю. Основна структурна одиниця внутрішньої мембрани хлоропластів — тилакоїд, тонкий плоский диск, оточений одношаровою мембраною.

У його мембрані містяться хлорофіл а і в, каротиноїди та білки, які беруть участь у фотосинтетичних реакціях. Існують два типи тилакоїдів — великий тилакоїд строми, який за довжиною наближається до розмірів самого хлоропласту, і менший тилакоїд, або тилакоїд грани, діаметр якого 30.- 60 нм. Хлоропласт може мати 40 - 60 гран і, як правило, — від 5 до 20 тилакоїдів у грані. В гранах виявлено перфорації, крізь які мембрани гран поєднуються, а отже і їхній внутрішньотилакоїдний простір сполучається за допомогою вузьких трубочок — *фрет*.

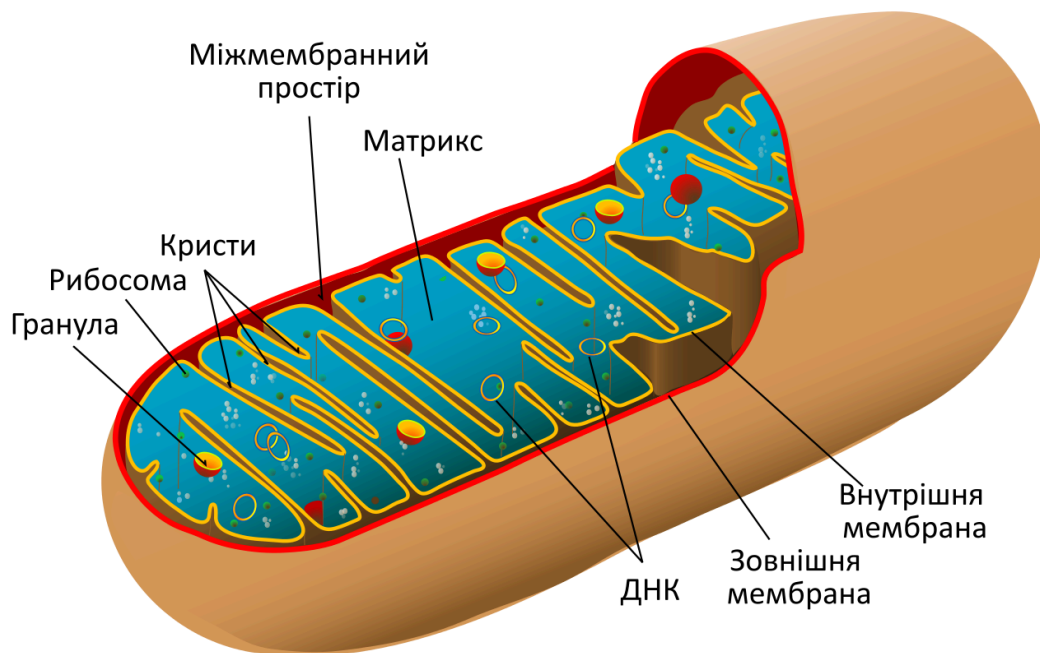
Тилакоїдна система — це єдиний компартмент, відокремлений від строми тилакоїдною мембранною системою. Розрізняють три важливі компартменти хлоропластів: міжмембранний простір між зовнішньою та внутрішньою мембранами, які оточують хлоропласт; стромальний; внутрішньотилакоїдний.

Зовнішня мембрана проникна для метаболітів. Цю проникність забезпечують специфічні мембранні білки — *поріни*, які формують пори в мембрані, крізь які вільно проходять речовини з молярною масою до 10 кДа. Встановлено, що розміри відкритих пор, сформованих порінами у хлоропластів, досягають 3 нм.

Функції:

Виконують біологічний процес перетворення (трансформації) сонячної енергії в енергію хімічних зв'язків органічних сполук — фотосинтез, який супроводжується поглинанням вуглекислого газу і води з виділенням кисню

Мітохондрії, їх будова та функції



Мітохондрії містяться у цитоплазмі всіх клітин еукаріотів. До складу мітохондрій входять білки, ліпіди, вітаміни, рибосоми, РНК, ДНК, ферментативний комплекс. Мітохондрія утворена подвійними мембранами - зовнішньою і внутрішньою.

Зовнішня мембрана гладенька, пориста, містить ферменти і білки, здатна пропускати речовини з невеликою молекулярною масою, а також іони. Вона є легкопроникною для пірувату, що утворився при неповному окисненні шестивуглецевих сполук у цитоплазмі.

Внутрішня мембрана має досить складну будову, утворює численні складки різної форми, які називаються **кристами**. Поверхня цієї мембрани густо вкрита грибоподібними (елементарними) частками, у яких при сутні фактори, що забезпечують синтез ДНК. Внутрішня мембрана проникна тільки для води і невеликих нейтральних молекул. У ній локалізований дихальний ланцюг, що складається з переносників електронів і невеликої кількості білків. Завдяки кристам внутрішній вміст мітохондрій - **матрикс** - поділений на відсіки. Мітохондріальний матрикс є гелеподібною речовиною, що містить до 50% білків. У ньому локалізовані ферменти циклу три-карбонових кислот (циклу Кребса) і синтезу ліпідів та білків. У матриксі також розміщені **рибосоми і мітохондріальна ДНК**.

Функції:

Забезпечення процесів життєдіяльності клітини необхідною енергією шляхом перетворення енергії хімічних зв'язків при окисненні дихального субстрату в енергію макроергічних зв'язків аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ). Утворення АТФ відбувається при ферментативному розщепленні вуглеводів, жирних кислот, амінокислот у процесі окислювального фосфорилування.

Крім того, у мітохондріях проходить біосинтез ліпідів і білків, які беруть участь у загальному процесі транспорту іонів у клітині.

Незважаючи на наявність власної генетичної і білоксинтезуючої системи,

мітохондрії не повністю автономні. Значна частина інформації про їх структуру і функції міститься у хромосомах ядра.

Вакуолярна система

В мерістематичних клітинах має вигляд маленьких пухирців, а зріла клітина містить велику центральну вакуолю, яка займає 90% її об'єму. До складу вакуолярного соку входять різноманітні органічні речовини і мінеральні солі. Крім органічних кислот, вуглеводів і білків, які повторно використовуються при обміні речовин, клітинний сік містить феноли, таніни, алкалоїди, антоціани, які виводяться в вакуоль і таким чином ізолюються від цитоплазми. Більшість ферментів ВС – гідролази.

Функції:

Завдяки здатності накопичувати висококонцентрований клітинний сік, вакуоль є головним осмотичним резервуаром клітини, який відіграє вирішальну роль у водному режимі рослин, підтримці тургорного тиску.

Приймає участь у детоксикації цитоплазми, виконуючі функції захисту цитоплазми від метаболічних стресів.

Процес вакуолеутворення є необхідною складовою частиною росту клітин методом розтягнення.

Мікротільця

Особливі внутрішньоклітинні органоїди. Вони мають кулясту форму з діаметром 0,2-1,5 мкм, оточені мембраною. Їхній матрикс містить ферменти каталазу і різні оксидази. Відомі два види мікротілець - пероксисоми і гліоксисоми.

Пероксисоми знаходяться у фотосинтезуючих клітинах вищих рослин у тісному контакті з хлоропластами і мітохондріями, що пов'язано з їхньою участю у фотодиханні.

Гліоксисоми містяться в клітинах ендосперму чи сім'ядолей жирозапасаючого насіння рицини, соняшнику або в клітинах багатого на жири б8 алейронового шару в насінні ячменю, пшениці, а також у зародковому щитку насіння кукурудзи. У клітині гліоксисоми концентруються навколо жирозапасаючих органоїдів - сферосом. Це зумовлює їхню функцію - перетворення жирів на вуглеводи.

Сферосоми це сферичні тільця діаметром 0,5 мкм, які містять ліпіди, тому їх ще називають ліпідними краплями (оліосомами). Сферосоми створюються із ЕР. У них містяться гідролітичні ферменти: ліази, естерази, протеази, РНКазі, ДНКазі. При проростанні насіння сферосоми функціонують у комплексі з гліоксисомами в процесах гліоксилатного циклу дихання і перетворення жирів до глюкози.

Лізосоми більш властиві клітинам тваринного походження, тому що в рослинних клітинах їх функцію виконують вакуолі. Функції лізосом: локалізація і ізоляція гідролітичних ферментів; гідроліз(розщеплення) макромолекул, розташованих зовні клітини, гідроліз запасних речовин і автоліз цитоплазми.

Мікротрубочки

Локалізовані у зовнішньому шарі цитоплазми, мають вигляд тонких циліндричних утворень із зовнішнім діаметром 30 нм, внутрішнім приблизно

14нм. Складаються із глобулярного кислого білку- тубуліну, розташованого спіралью, або по прямій лінії. Важливою функцією мікротрубочок є участь у різних рухах цитоплазми, тому їх ще називають « м'язами клітини». Мікротрубочки виконують також орієнтування синтетичних процесів у клітині.

1.2. Осмотичні властивості рослинної клітини

Для своєї життєдіяльності клітини потребують безперервного припливу поживних речовин із навколишнього середовища. Проникність клітини характеризується швидкістю проходження речовин через клітинну поверхню

Рослинні і тваринні клітини у своєму складі містять багато води. У тваринних клітинах її близько 80%, а у деяких рослинних клітинах, які мають велику центральну вакуолю – до 95%.

У розчинах деяких речовин рослинні клітини, які мають центральну вакуолю, поведуть себе як осмометри: їх об'єм (V) змінюється пропорційно зміні осмотичного тиску середовища (P) або $VP = const$. Це пояснюється тим, що вміст клітини відокремлений від зовнішнього водного розчину напівпроникною мембраною, легко проникною для молекул води і важко, або зовсім не проникною для молекул розчинених у ній речовин. Цим і визначаються осмотичні властивості клітини.

Осмос – це одnobічна дифузія розчинника через напівпроникну перегородку (мембрану). Осмос обумовлений прагненням системи до термодинамічної рівноваги і вирівнюванню концентрації розчину по обидва боки мембрани. Процес дифузії молекул розчинника під час осмосу відбувається у двох напрямках – із розчину з меншою концентрацією розчиненої речовини (або чистого розчинника) і розчину з більшою концентрацією розчиненої речовини. Але у розчині з більшою концентрацією розчиненої речовини кількість молекул розчинника в одиниці об'єму менше, тобто кількість розчинника, який проходить за одиницю часу через мембрану у бік такого розчину більша, ніж у бік розчину з меншою концентрацією. Різниця цих двох дифузійних потоків і обумовлює потік розчинника до розчину. Осмос продовжується до тих пір, поки концентрація розчиненої речовини по обидва боки мембрани не стане однаковою.

Якщо рослинні клітини покласти в розчини речовин, осмотичний тиск яких вищий від осмотичного тиску вмісту клітини (**гіпертонічні розчини**), при умові, що молекули розчиненої речовини не проникають у клітину, то клітини будуть втрачати воду доти, поки осмотичний тиск усередині клітини не вирівняється з зовнішнім осмотичним тиском. Причому протопласт відокремлюється від целюлозної оболонки, зменшуючись в об'ємі (плазмоліз). Цей процес називається екзосмосом.

Якщо молекули розчиненої речовини проникають у клітину, але з меншою швидкістю, ніж молекули води, то спочатку відбудеться плазмоліз, але в міру проникання молекул із зовнішнього розчину в клітину об'єм протопласта збільшуватиметься і з часом досягне вихідної величини (**деплазмоліз**).

Осмотичний тиск усередині клітини й зовнішньому середовищі буде однаковий. Якщо молекули зовнішнього розчину проникають крізь клітинну мембрану з такою самою швидкістю, як і молекули води, то об'єм протопласта змінюватися не буде і плазмоліз не відбудеться.

Якщо клітини покласти в розчини речовин, осмотичний тиск яких нижчий від осмотичного тиску вмісту клітини (**гіпотонічні розчини**), то відбувається зворотній процес, який називається ендосмосом, тобто осмос проходить усередину клітини. При цьому клітина розбухає, або, при великій різниці концентрацій, відбувається руйнація мембрани і вміст клітини виходить назовні. Якщо клітини представлені еритроцитами спостерігається явище гемолізу, тобто гемоглобін виходить до розчину.

Якщо клітини покласти в розчини речовин, осмотичний тиск яких дорівнює осмотичному тиску вмісту клітини (**ізотонічні розчини**), то ніяких змін не відбувається. Найпростішим ізотонічним, або фізіологічним розчином є 0,89% розчин NaCl.

1.3. Явище плазмолізу та деплазмолізу в рослинних клітинах (лабораторна робота)

Мета роботи: в результаті особистих спостережень визначити умови проходження плазмолізу та деплазмолізу в рослинних клітинах. **Обладнання, об'єкти, реактиви:** скальпелі, препарувальні голки, предметні скельця, накривні скельця, мікроскопи; луски синьозабарвленої цибулі або інші об'єкти; 1М розчини плазмолітиків, скляні палички, стаканчики з водою, фільтрувальний папір, пінцети.

Плазмоліз – це відокремлення протопласта від оболонки рослинної клітини. Явище протилежне деплазмолізу. Причиною плазмолізу є зменшення об'єму внутрішньоклітинного вмісту через втрату води під дією гіпертонічних розчинів. Плазмоліз можливий лише у життєздатній та 9 функціонально цілісній клітині. Процес повернення клітини до нормального стану у гіпотонічному розчині називають деплазмолізом. У зів'ялих рослин плазмоліз не відбувається, але можна спостерігати явище циторізу, коли плазмалема не відокремлюється від оболонки і клітина зморщується.

Хід роботи

1. З розрізаної синьо забарвленої цибулі відокремте луски і пінцетом відділіть шматочок тонкої зовнішньої плівки (епідерми, розміром 0,5 x 0,5 см). Помістіть плівку в краплину води на предметне скло, накривши покривним скельцем.

2. Досліджуваний об'єкт на предметному склі розгляньте під мікроскопом. Відшукайте клітини з найінтенсивнішим забарвленням, не деформовані.

3. Замалюйте клітини епідерми цибулі.

4. Фільтрувальним папером відтягніть воду від препарату. З протилежного нанесіть піпеткою краплину 1 М розчину сахарози або NaCl. Поступово (за 1-4 хвилини) плазмолітик почне надходити в клітину.

5. Спостерігайте як цитоплазма починає відставати від оболонки в кутках

клітини. Відокремлення збільшується, і протопласт набуває овальної конфігурації посередині клітини. Замалюйте клітини в стані плазмолізу.

6. Піпеткою біля покривного скла нанесіть декілька крапель води і фільтрувальним папером 3-4 рази обережно протягніть воду через препарат, щоб під покривним склом створити розчин з меншою концентрацією, ніж має клітинний сік.

7. Коли клітина насичується водою (в результаті заміни розчину плазмолітика) її вакуоля розтягується і протопласт поступово заповнює всю клітину.

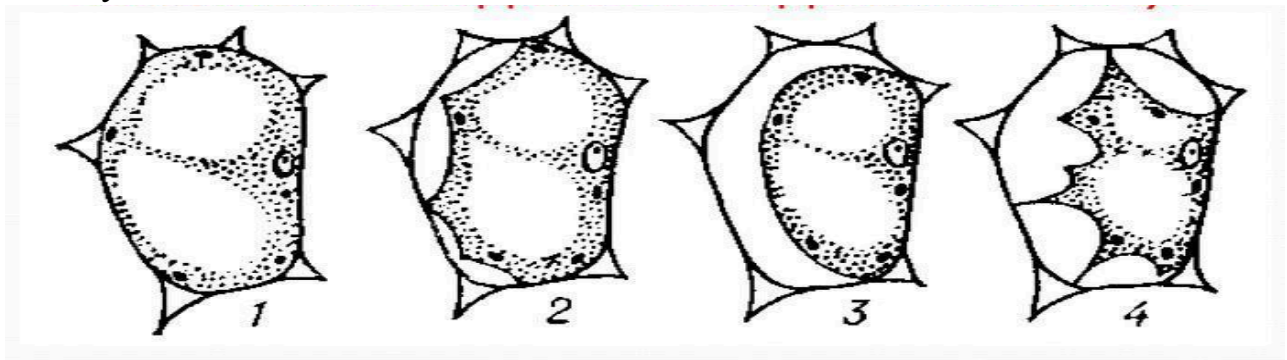


Рис.1.3(а) Види плазмолізу в рослинних клітинах:
1 - початкова стадія; 2-увігнутий; 3- опуклий; 4- судомний

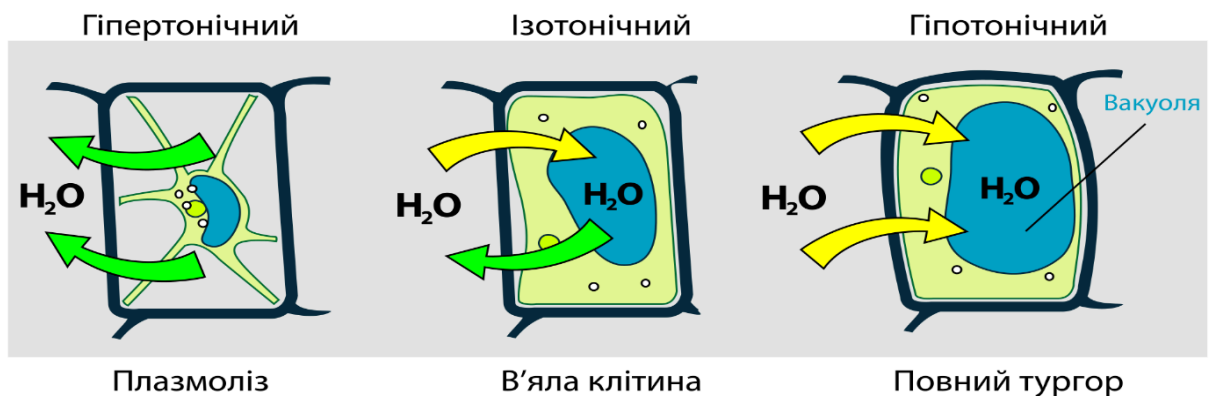


Рис.1.3(б) Різний стан рослинних клітин в залежності від типу розчинів

1.4. Визначення проникності цитоплазми за дії температури та токсичних речовин

Мета: порівняти проникність живої та мертвої цитоплазми рослинної клітини.

Обладнання: мікроскоп, предметне й накривне скло, свердла, штативи з п'ятьма пробірками, піпетки, чашка Петрі, леза, дощечка, мірна пробірка, гумові пробки.

Реактиви: 30 %-на оцтова кислота, 50 %-й спирт, 1М KNO_3 , кипляча вода.

Об'єкт дослідження: коренеплоди червоного буряку.

Протоплазма - це жива речовина, вміст живої клітини, її цитоплазма та

ядро. Уявлення про протоплазму виникло і утвердилось у зв'язку з розвитком клітинної теорії. Термін «протоплазма» ввів у 1839 р. Ян Пуркіне для визначення формоутворювальної речовини зародка, подібної до камбію рослин. Для протоплазми всіх живих клітин характерна принципова єдність фізико-хімічних властивостей і структурно-функціональної організації. Протоплазма рослинної й тваринної клітин містить (%): води – 75-85, білка – 10-20, ліпідів – 2-3, неорганічних речовин – 1. Сухий залишок протоплазми на 96 % складається з вуглецю, кисню, водню та азоту, на 3 % – з кальцію, фосфору, калію, сірки; в невеликих кількостях в протоплазмі є йод, залізо, натрій, хлор, магній, мідь та інші елементи. Протоплазма – багатофазна колоїдна система, в якій дисперсним середовищем є вода з розчиненими в ній неорганічними солями, а основними дисперсними фазами – білки, ліпіди, нуклеопротейди. Протоплазма – це не тільки неоднорідне, а й високоструктуроване і компартиментизоване (розділене перегородками – мембранами – на відсіки, що виконують певні функції) середовище, якому властивий високий ступінь молекулярної організації. В структурній організації протоплазми та її функціональній активності важлива роль належить біологічним мембранам. Останні розподіляють протоплазму на окремі структури, обмежують дифузію речовин, одночасно створюють специфічну орієнтацію поліферментативних систем, на яких можуть бути локалізовані певні типи реакцій. Цитоплазма живої клітини завдяки напівпроникності утримує в клітинному соці деякі розчинені речовини. У разі пошкодження цитоплазми (температурою, хімічними агентами тощо) вона втрачає цю властивість, і речовини з клітинного соку виходять назовні через ультрамікроскопічні пори клітинної оболонки.

Хід роботи

З коренеплодів очищеного столового буряку вирізають диски товщиною до 0,5 см і промивають під проточною водопровідною водою, поки та не залишиться прозорою. Промиті диски буряку поміщають по п'ять у кожен пробірку за схемою, наведеною в табл. 1.

Таблиця 1. Інтенсивність забарвлення розчинів та ступінь пошкодження тканин

Варіант досліджу	Контроль, (дист. вода) (5мл.)	Кипляча дист. вода(5мл.)	30%-на оцтова к-та (5мл)	50%-й спирт (5мл)
Інтенсивність забарвлення розчину				

Через 30 хв після початку досліджу всі пробірки інтенсивно збобтують. Визначають інтенсивність забарвлення розчинів і ступінь пошкодження тканин такими термінами: слабе, середне, сильне. Результати записують у таблицю. Для спостереження за станом клітин із диска буряку контрольного варіанта з найбільш інтенсивно забарвленим розчином роблять тонкі зрізи, розміщують їх на предметному склі в краплі 1 М розчину KNO_3 , накривають накривним склом

і розглядають у мікроскоп.

1.5. Визначення всисної сили рослинних клітин методом вимірювання відрізків (за М.Ф. Лілієнштерн) (лабораторна робота)

Водообмін між рослинною клітиною і розчином визначається співвідношенням їх всисних сил, тобто розчинник (вода) пересувається в бік більшої всисної сили. Якщо рослинна тканина занурена в розчин, всисна сила якого більша за всисну силу клітини, вода виходить з клітини назовні, і розміри клітин (об'єм) зменшуються. В протилежних умовах вода надходить до клітин, їх розміри збільшуються. Якщо зразок рослинного об'єкту має форму вузької смужки, її довжина збільшується або зменшується. Якщо довжина не змінилася, розчин є ізотонічним.

Об'єкт: бульба картоплі.

Матеріали та обладнання: бюретки, воронки, скальпель, лезо, пінцети, фарфорові чашки для лінійки розчинів, картонні кришки з позначками від 0, 1М до 0,9 М, міліметровий папір, препарувальне скло, 1М розчин сахарози, штатив з великими та маленькими пробірками.

Хід роботи

Рештки розчинів з великих пробірок, що були виготовлені при виконанні завдання 1, переливають у фарфорові чашки і накривають їх картонними кришками з позначкою про концентрацію. На препарувальному склі роблять смужки з бульби картоплі завдовжки 30-35 мм, завширшки 5 мм, завтовшки 2-3 мм. У кожен чашку опускають по 2 такі смужки і залишають на 20-30 хв. Після досліду за допомогою міліметрового паперу заміряють довжину кожної смужки.

Найкоротша смужка має $T_1=0$, тоді $P_1= S_1$ (сисна сила дорівнює тургорному тиску). Для кожної концентрації визначають S .

Між осмотичним тиском і довжиною смужки існує протилежна залежність:

$$\frac{P_1}{P_2} = \frac{l_2}{l_1}, \text{ відповідно, } P_2 = \frac{(P_1 * l_1)}{l_2}, P_2 = \frac{(P_3 * l_1)}{l_3} \text{ тощо.}$$

Тургор дорівнює $(P - S)$, тобто $T_2 = P_2 - S_2$, $T_3 = P_3 - S_3$ і т.д.

Результати досліду занести в таблицю, накреслити за її даними графіки залежності між S , P , T .

ТЕМА 2 ОБМІН РЕЧОВИН (ХІМІЧНИЙ СКЛАД РОСЛИННИХ КЛІТИН)

Висока активність органоїдів рослинної клітини пояснюється як структурними особливостями, так і їхнім хімічним складом. Цікаво зазначити, що з відомих у земній корі та атмосфері 100 елементів лише обмежену кількість відібрала природа у процесі еволюції. Так, 85-90% маси живих тканин становить вода, а 99% маси цитоплазми складають 6 елементів: вуглець, кисень, водень, азот, сірка, фосфор. Всі ці елементи входять до складу найважливіших типів органічних сполук клітини.

Найбільш специфічними речовинами живої рослинної клітини є біополімери: білки, нуклеїнові кислоти, полісахариди та складові частини цих молекул (амінокислоти, нуклеотиди, прості вуглеводи, жирні кислоти).

В клітині міститься, %: води - 85, білка - 10, ДНК - 0,4, неорганічної речовини - 1,5. На 1 молекулу ДНК приходить 44 молекули РНК, 700 молекул білка і 7000 молекул ліпідів.

Вода в клітині знаходиться в двох формах: вільна і зв'язана. *Вільна вода* становить 95% всієї води клітини, використовується як розчинник і як дисперсійне середовище колоїдної системи протопласта. *Зв'язана вода* складає 4-5% - це молекули води, які зв'язані водневими зв'язками або іншими типами зв'язків з білками. До зв'язаної відноситься також іммобілізаційна вода, що входить до складу фібрилярних структур макромолекул.

Розрізняють **зовнішній** обмін, який включає позаклітинне перетворення речовин на шляхах їх вступу і виділення, та **проміжний**, який здійснюється в клітинах. Під проміжним обміном речовин розуміють сукупність усіх біохімічних реакцій живої клітини.

Різноманітність продуктів метаболізму настільки багаті, що їх ділять на речовини первинного і вторинного обміну. Речовини первинного обміну характерні для даного виду організму і беруть участь в обміні на протязі всього життя рослини (білки, вуглеводи, жири, нуклеїнові кислоти). Речовини вторинного обміну включаються у метаболізм тільки на певному етапі розвитку і властиві конкретному сорту. До них належать алкалоїди., терпени, глікозиди та ін..

В обміні рослин прийнято виділяти два протилежні процеси: катаболізм і анаболізм. **Катаболізм** представляє собою реакції розщеплення великих молекул на дрібні. **Анаболізм** – це синтез складних молекул з простих.

Катаболізм супроводжується звільненням енергії, яка може акумулюватися у вигляді аденозинтрифосфату (АТФ). При анаболітичних процесах проходить витрата АТФ.

2.1. Вуглеводи

Вуглеводи є важливою складовою частиною живих організмів. Основна маса органічного вуглецю в біосфері знаходиться саме в складі вуглеводів. У рослинних тканинах їх вміст становить понад 80 % від сухої маси. Вуглеводи є тими речовинами, які первинно утворюються в зелених рослинах у процесі

фотосинтезу та дають початок іншим органічним речовинам.

Вуглеводи як запасні речовини нагромаджуються в коренях, бульбах, плодах, насінні багатьох дикорослих і культурних рослин. Значна маса вуглеводів зосереджена в клітинних оболонках у вигляді целюлози, геміцелюлоз, пектинів. У середині протопласта вуглеводи можуть нагромаджуватись у вигляді включень крохмалю, інуліну та інших форм. У гіалоплазмі вуглеводи знаходяться у вільній формі або в формі похідних сполук вуглеводів, а їх залишки входять до складу більш складних речовин і надмолекулярних комплексів (наприклад, рибоза й дезоксирибоза входять до складу нуклеотидів, різні олігосахариди входять до складу плазмалемі).

В залежності від складу, структури і властивостей вуглеводи поділяють на три основні класи: моносахариди, олігосахариди і полісахариди.

Моносахариди – речовини, добре розчинені у воді, солодкі на смак, оптично активні. В залежності від числа атомів вуглецю їх ділять на тріоди, тетрози, пентози, гексози, гептоди. За хімічним складом монози є альдегідо- або кетонспиртами (альдози і кетози). У клітинах моносахариди використовуються як джерело енергії. Вони входять до складу клітинних оболонок, коферментів, нуклеотидів. Гексози – найбільш поширені у природі вуглеводи. Вони знаходяться у вільному стані і є мономерами оліго- і полісахаридів. До гексоз відносять глюкозу, фруктозу, занозу, галактозу.

Моносахариди, які мають вільну альдегідну (глюкоза)групу, або кетонну (фруктоза) групу, у лужному середовищі є сильними відновниками, тобто здатні віддавати протони і електрони. При цьому вони окислюються, а речовина, яка їх одержує відновлюється. На цій властивості засновані кількісні та якісні методи визначення вуглеводів.

Олігосахариди є полімерними вуглеводами, які мають від двох до п'ятнадцяти моносахаридів, з'єднаних глікозидними зв'язками і характеризуються порівняно невисокою молекулярною масою. Більшість олігосахаридів оптично активні, добре розчинені у воді. Серед найбільш розповсюджених олігосахаридів слід відзначити сахарозу, мальтозу, рафінозу. Олігосахариди виконують захисні та інформаційні функції.

Полісахариди це високомолекулярні сполуки, побудовані з багатьох моносахаридів та їх похідних. До цієї групи вуглеводів відносять крохмаль, целюлозу, інулін, пектинові речовини, агар – агар, геміцелюлозу та ін.. Полісахариди у рослинах виконують функції асимілятів, запасних і структурних речовин, а також інші функції: енергетичну (крохмаль, глікоген), опорну (целюлоза), захисно – механічну (слизи, камеді), гідро осмотичну.

В організмі рослин вуглеводи виконують ряд важливих функцій – енергетичну (при окисненні 1 г вуглеводів виділяється біля 16,9 кДж енергії), будівельну (використовуються для синтезу багатьох важливих речовин, з вуглеводів утворюється оболонка клітин), захисну (є основними компонентами клітинних оболонок, утворюють різні слизи й рослинні клеї, камеді), опорну (складають основу цитоскелету рослин), регуляторну (різні групи вуглеводів регулюють величину продихових щілин, осмотичний тиск), запасну (в рослинах органічні речовини найчастіше відкладаються в формі різних вуглеводів). Крім

названих функцій, вуглеводи можуть виконувати й деякі специфічні функції.

2.2. Якісні реакції на вуглеводи (лабораторна робота)

2.2.1. Реакція Тромера. У пробірку наливають 2 мл 3 %-го розчину глюкози і додають 2 мл 5 %-го розчину натрій гідроксиду та по краплях 5 %-ний розчин купрум сульфату до утворення незникаючого помутніння блакитного кольору. Вміст пробірки нагрівають. Випадає осад купрум (I) оксиду. Повторити даний дослід з використанням розчину фруктози.

2.2.2. Гідроліз крохмалю. У дві пробірки наливають по 3 мл 1 %-го розчину крохмалю. В одну з них додають 2 краплі концентрованої хлоридної кислоти і ставлять у киплячу водяну баню на 15 хвилин, друга пробірка – контроль. Потім у обидві пробірки додають по 1 мл 10 %-го розчину натрій гідроксиду та по 5 крапель 1 %-го розчину купрум сульфату і знову нагрівають на водяній бані (проводять реакцію Тромера). У пробірці, де відбувся гідроліз крохмалю, утворюється осад купрум (I) оксиду. В контрольному розчині осад не утворюється.

2.2.3. Реакція крохмалю з йодом. У пробірку наливають 2 мл 1 %-го розчину крохмалю і додають 1–2 краплі розчину Люголя. Вміст пробірки нагрівають. Розчин набуває синього кольору. Забарвлення є нестійким: при нагріванні воно зникає, а при охолодженні з'являється знову.

2.3. Визначення вмісту сахарози в коренеплодах цукрових буряків (лабораторна робота)

Принцип методу. Для прижиттєвого визначення вмісту сахарози в коренеплодах цукрових буряків використовують мікрометод, запропонований М. Дюбуа. Він ґрунтується на здатності моно- й дисахаридів давати жовто-оранжеве забарвлення з розчином фенолу в концентрованій сірчаній кислоті.

Обладнання та реактиви: Ніж, торзійні ваги, голка медичного шприца діаметром 1 мм із металічним штоком, штатив із пробірками, піпетки градуйовані, скляні палички, бюретки, льодяна баня, ФЕК, концентрована сірчана кислота (густина 1,84), 5 %-ий розчин свіжоперегнаного фенолу, сахароза кристалічна, дистильована вода.

Хід роботи

Ножем перерізати шийку коренеплоду. Уколом голки на глибину 5 мм під кутом 45° відібрати з нижньої частини шийки коренеплоду дві паралельні (з протилежних сторін) проби. На торсійних вагах відважити 1,5–2,0 мг досліджуваної проби, виштовхуючи її з голки металічним штоком. Кожну з проб помістити в пробірки, в які попередньо влити 2 мл дистильованої води. Потім у ці пробірки бюретками додати 1 мл розчину фенолу та 5 мл сірчаної кислоти. Вміст пробірок добре перемішати та охолодити на льодяній бані до кімнатної температури. При цьому проба під впливом сірчаної кислоти повністю розчиняється. Через 20–25 хв. Встановлюється (зберігається впродовж декількох

годин) жовто-оранжеве забарвлення розчину.

Інтенсивність забарвлення розчину виміряти на ФЕК в кюветі з робочою довжиною 1 см при довжині хвилі 480-490 нм відносно контрольного розчину, який готують зливанням 2 мл дистильованої води, 1 мл розчину фенолу та 5 мл сірчаної кислоти.

Вміст сахарози в пробі визначити за калібрувальною кривою, а її концентрацію в коренеплодах – за формулою

$$w(\text{сахарози}) = a|m * 100\%,$$

де $w(\text{сахарози})$ – відносний вміст сахарози в коренеплоді, %; a – вміст сахарози в пробі, що визначений за калібрувальною кривою, мкг; m – маса наважки, мкг.

Для приготування стандартного розчину сахарози в 1 л дистильованої води розчинити 50 мг кристалічної сахарози. Для побудови калібрувальної кривої використовують розчини з вмістом сахарози від 10 до 70 мкг у 2 мл дистильованої води.

2.4. Білки

Білки – це особливий клас речовин, які є невід’ємною складовою всіх живих організмів. За хімічною структурою білки або протеїни – це високомолекулярні азотовмісні органічні речовини, побудовані з амінокислот, що з’єднані між собою пептидними зв’язками. Іншими словами, білки – це високомолекулярні полімери, мономерами яких є амінокислоти. Спільною ознакою для всіх амінокислот є наявність амінної (-NH₂) та карбоксильної (-COOH) груп. До складу природних білків входять 20 α-амінокислот, які кодуються ДНК і називаються протеїногенними або стандартними амінокислотами. Присутність білків у біологічних об’єктах можна виявити за допомогою кольорових реакцій, зумовлених наявністю в цих органічних біополімерах амінокислот, їх специфічних груп або пептидних зв’язків. Існують універсальні кольорові реакції, характерні для всіх білків незалежно від амінокислотного складу (біуретова, нінгідрінова), а також специфічні реакції, у яких беруть участь тільки певні амінокислотні залишки молекули білка (ксантопротеїнова, Фоля та реакція Паулі).

Білки розрізняються за амінокислотним складом і за формою молекул. Виділяють чотири рівні структурної організації білків рис.

Первинною структурою називають лінійний поліпептидний ланцюг з амінокислот, з’єднаних пептидними зв’язками.

Вторинна структура являє собою спіральну або складчасту конфігурацію поліпептидних ланцюгів, утворених водневими зв’язками.

Третинною структурою білка називають спосіб розташування поліпептидного ланцюга у просторі за допомогою водневих, іонних, дисульфідних зв’язків і гідрофобної взаємодії. За формою білка третинної структури поділяються на глобулярні, (кулясті) і фібрилярні (нитковидні).

Під **четвертинною** структурою розуміють комплекс двох або більше поліпептидних ланцюгів, розвернутих у просторі, що утворюють біологічно активну молекулу, яка має і небілкові речовини.

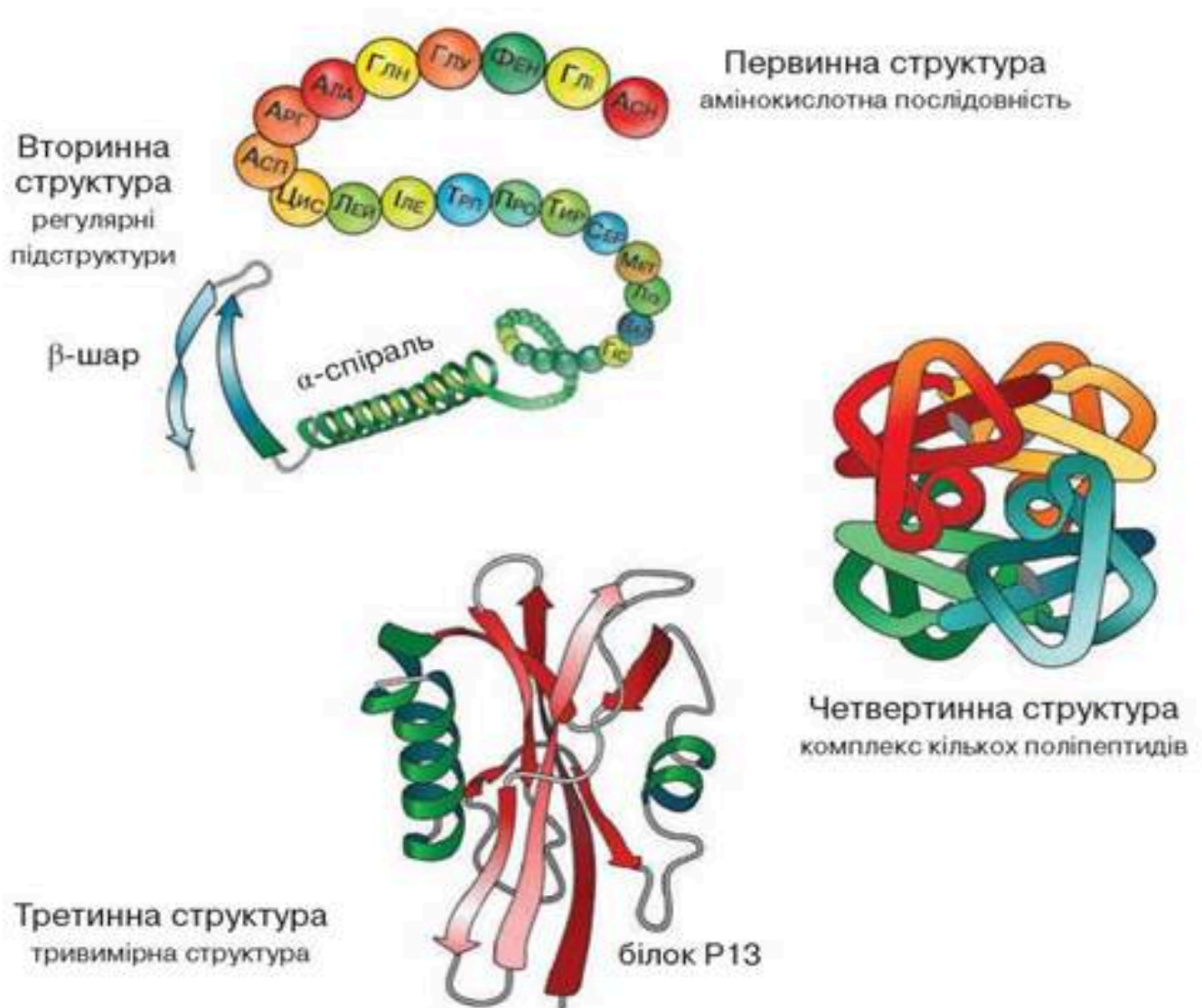


Рис. 2.4. Рівні структурної організації білків

Під дією різних факторів, які порушують вищі рівні структурної організації білкової молекули зі збереженням первинної структури, білок втрачає свої фізико – хімічні і біологічні властивості. Це явище називається **денатурацією**, явище злипання білкових молекул – **коагуляцією**.

Біосинтез молекул білка відбувається у рибосомах.

Етапи біосинтезу білка:

1. Транскрипція (синтез іРНК на матриці ДНК)
2. Активація амінокислот за допомогою енергії АТФ і відповідного ферменту.
3. Взаємодія тРНК з активованою амінокислотою.
4. Утворення пептидного зв'язку з рибосомами.

2.5. Якісні реакції на білки (лабораторна робота)

Біуретова реакція (зумовлена наявністю в молекулі білка двох і більше пептидних зв'язків (-CO-NH-)). До 3 мл розчину білка добавляють 1 мл 10 %-го розчину натрій гідроксиду і 1-2 краплі 1 %-го розчину купрум (II) сульфату. З'являється синьо-фіолетове або рожево-фіолетове забарвлення. Виявлення ациклічних амінокислот у складі білків, рис. 2.5.(а)

Нінгідрінова реакція. До 3 мл розчину білка добавляють 3 мл 0,1 %-го водного розчину нінгідрину і кип'ять 1–2 хв. Розчин забарвлюється у фіолетовий колір, який з часом темніє.

Реакція Фоля (зумовлена наявністю в молекулі білка сульфуровмісних амінокислот – цистину або цистеїну). До 3 мл розчину білка добавляють 3 мл реактиву Фоля, після перемішування кип'ять і дають відстоятися протягом декількох хвилин. Розчин охолоджують. Випадає чорний осад плумбум (II) сульфід. Виявлення циклічних амінокислот у складі білків

Ксантопротеїнова реакція (виявлення залишків ароматичних амінокислот). До 3 мл розчину білка добавляють 1 мл концентрованої нітратної кислоти і обережно нагрівають. Після охолодження в пробірку приливають 10 %-й розчин натрій гідроксиду. В результаті нагрівання спостерігається поява жовтого забарвлення. Після додавання розчину натрій гідроксиду виникає оранжеве забарвлення.

Осадження білків солями важких металів. У дві пробірки наливають по 3 мл розчину білка. У 1-шу пробірку обережно краплями добавляють 5 %-й розчин плумбум (II) ацетату, а в другу – 5 %-й розчин купрум (II) сульфату. Спостерігається утворення осаду білка (з сіллю купруму (II) – блакитного кольору, плумбуму (II) – білого кольору). При додаванні надлишку обох розчинів відбувається розчинення утворених осадів, рис. 2.5.(б)

Осадження білків органічними розчинниками. У дві пробірки наливають по 2 мл розчину білка та добавляють декілька кристаликів натрій хлориду. У 1-шу пробірку добавляють 2 мл ацетону, а у 2-гу – 2 мл етанолу. Спостерігається утворення осаду білка.



Рис. 2.5.(а) Ксантопротеїнова реакція та біуретова реакція

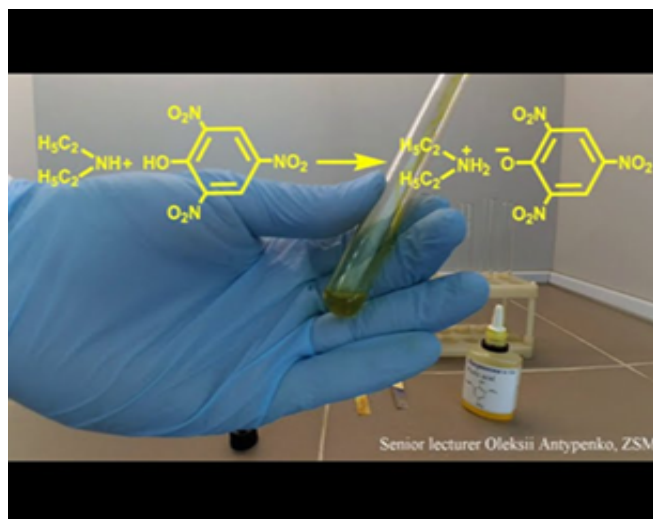


Рис. 2.5. (б) Осадження білків солями важких металів

2.6. Жири, ліпіди

Рослинні жири й олії (частіше просто **олія**) — ліпідні матеріали, отримані з рослин. Фізично олії є рідкими при кімнатній температурі, а жири є твердими. Деякі тверді рослинні жири також можуть називати *оліями*: кокосове, какао-масло. Хоча жири містяться майже в усіх частинах рослин, у комерційній практиці вони видобуваються в основному з насіння, а також зародків, плодів. Хімічні і фізико - хімічні властивості жирів значною мірою визначаються співвідношенням насичених і ненасичених жирних кислот, що входять до складу жирів. Жири, що містять насичені кислоти, які не мають подвійних зв'язків (стеаринова, пальмітинова) мають тверду консистенцію. Якщо ж у складі жирів переважають ненасичені жирні кислоти з подвійними зв'язками (олеїнова, лінолева, ліноленова) то вони є рідкими.

Ліпіди відіграють важливу роль у протопласті, вони беруть участь в адсорбційних процесах і регулюванні проникності цитоплазми для речовин, що надходять до клітини. Тільки в присутності ліпідів та деяких інших речовин (навіть у мізерних кількостях) можливе підтримання структури протопласту, що необхідна для життя клітини.

2.7. Доказ нерозчинності жирів у воді і одержання стійкої емульсії

Матеріали і обладнання: 10% NaOH, олія, вода, пробірки, штатив.

Хід роботи: Для отримання емульсії взяти 5-10 мл води і 0,5-1 мл олії, закрити пробірку великим пальцем і струшувати 1 хв. Олія розіб'ється на малі краплини, утвориться емульсія. Через деякий час з цієї суміші всі краплини олії зберуться в один шар на поверхні води, що і є доказом нерозчинності жирів у воді.

В пробірку з водяною емульсією (попередній дослід) долити кілька краплин 10% розчину луку (неорганічний емульгатор) і струсити. Утворюється тонка і стійка емульсія, яка зберігає свої властивості довгий час. Яскравим прикладом стійкої емульсії може виступати молоко, де емульгатором виступають білки.

2.8. Ферменти

Ферменти – це біологічні каталізатори білкової природи, які забезпечують прискорення і координацію численних метаболічних процесів в живих організмах. Існують тисячі ферментів, які каталізують окремі хімічні перетворення або групи споріднених реакцій. Ферменти розрізняються за своєю будовою, наявністю небілкових компонентів, локалізацією, різними фізико-хімічними та каталітичними властивостями. Активність ферментів може змінюватись в широких межах в залежності від численних внутрішніх та зовнішніх факторів.

Здебільшого кількість ферменту не можна виміряти в одиницях маси, тобто в міліграмах або в моль, про неї опосередковано свідчить його активність, тобто дія ферменту. Іншими словами, присутність і кількість ферменту виявляють за специфічністю та швидкістю реакції, яку він каталізує. Активність ферменту можна визначити опосередковано: за визначенням кількості продукту,

який утворився під дією ферменту або за кількістю витраченого субстрату за одиницю часу при оптимальних умовах ферментативної реакції. Наприклад, активність α -амілази, яка каталізує гідролітичне розщеплення крохмалю з утворенням у кінцевому результаті мальтози, розраховують на основі кількості негідролізованого крохмалю або за кількістю утвореної мальтози

2.9. Вивчення специфічності дії амілази слини та сахарози дріжджів

Принцип методу. Специфічність дії є однією з найбільш характерних властивостей ферментів і полягає в тому, що кожен фермент діє на певний субстрат чи групу субстратів, які мають подібну структуру. Розрізняють абсолютну, відносну (групову) та стереохімічну специфічність. Висока специфічність ферментів обумовлена їх білковою природою та структурою активного центру. Амілаза слини розщеплює крохмаль до дисахариду – мальтози і не діє на дисахарид – сахарозу, сахароза розщеплює сахарозу на глюкозу та фруктозу і не діє на крохмаль. Ступінь гідролізу субстратів оцінюють за результатами реакції Тромера. Мальтоза містить вільну альдегідну групу, а тому утворює забарвлення з реактивом Троммера, а сахароза не містить вільної альдегідної групи, тому не дає реакції.

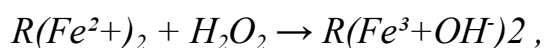
Матеріальне забезпечення: 1 % р-н крохмалю, препарат сахарози дріжджів, 1 %-го розчин сахарози, 0,1 розчин I_2 в KI, 10 % р-н NaOH, 5 % р-н $CuSO_4$, розведена слина, газовий пальник, водяна баня, штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи

Специфічність амілази: в дві пробірки поміщають по 1 мл розведеної в два рази слини. В пробірку № 1 додають 2 мл 1 %-го розчину крохмалю, в пробірку № 2 – 2 мл 1 %-го розчину сахарози. Обидві пробірки ставлять в термостат при $t = 37^\circ C$ на 15 хв. Після закінчення інкубації в обох пробірках проводять реакцію Тромера. Специфічність сахарози дріжджів: в дві пробірки поміщають по 1 мл препарату сахарози дріжджів. В пробірку № 3 додають 2 мл 1 %-го розчину сахарози, в пробірку № 4 – 2 мл 1 %-го розчину крохмалю. Обидві пробірки ставлять в термостат при $t = 37^\circ C$ на 15 хв. Після закінчення інкубації в обох пробірках проводять реакцію Тромера. Результати проведеного експерименту заносять в таблицю.

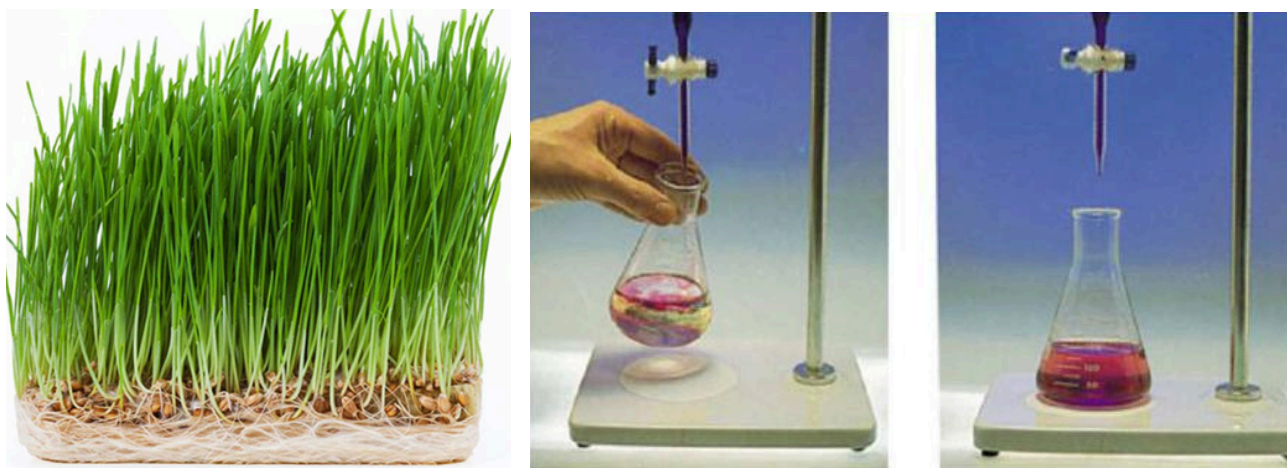
2.10. Визначення активності каталази в рослинному матеріалі (лабораторна робота)

Каталаза належить до класу оксидоредуктаз. Вона розщеплює пероксид водню на воду та молекулярний кисень. Пероксид водню здатний однаково легко віддавати і приймати електрони, тобто бути і окиснювачем, і відновником. Тому взаємодія каталази з пероксидом водню проходить у дві стадії. На першій стадії реакції пероксид водню буде окиснювачем:



а на другій стадії – відновником: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$.

Оскільки каталаза бере безпосередню участь в реакції, то за кількістю розкладеного за одиницю часу пероксиду можна розрахувати активність ферменту. Оптимальне значення рН для каталази лежить в межах 6,8 – 7,2. Каталаза знаходиться на одному з перших місць серед інших ферментів за каталітичною активністю, що дозволяє використовувати цей фермент як індикатор забруднень. Просторово основний фонд каталази (до 80 %) локалізований в пероксисомах, значно менший (до 15 %) – в мітохондріях і ще менший (до 7 %) – в цитозолі. Каталаза належить до гемопротейдних ферментів, до складу яких входить залізо. При цьому атом заліза простетичної групи підлягає поперемінному окисненню і відновленню. Одна молекула рослинної каталази включає дві простетичні групи. Характер їх зв'язку з білком до кінця невідомий.



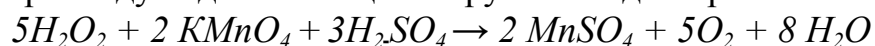
Мета: визначити активність каталази у рослинному матеріалі.

Обладнання: мірні колби, хімічні циліндри, титрувальні бюретки, піпетки, фарфорова ступка, лійка, паперові фільтри, бюкси, спектрофотометр СФ-46, центрифуга.

Реактиви: 0,05М фосфатного буфер (рН 6,8). дистильована вода, 0,1н H_2O_2 , 25 %-й розчин сірчаної кислоти (H_2SO_4), 0,05н розчин $KMnO_4$.

Об'єкт дослідження: рослинний матеріал.

Суть методу аналізу активності каталази полягає у визначенні кількості пероксиду водню, що розкладається ферментом, виділеним з певної кількості рослинного матеріалу, за одиницю часу. Пероксид водню додають до рослинної проби у надлишку, кількість, що залишається, визначають перманганатометричним титруванням. Паралельно визначають кількість перекису водню в контрольній пробі, в якій фермент попередньо вбитий сірчаною кислотою. Ферментативну реакцію в дослідних пробах через певний час зупиняють додаванням сірчаної кислоти, яка одночасно інактивує фермент і створює потрібне сірчаноокисле середовище для перманганатометричного титрування пероксиду водню. Реакція титрування йде за рівнянням:



Хід роботи

Наважку рослинного матеріалу масою 0,2г розтерти в фарфоровій ступці з невеликим об'ємом 0,05М фосфатного буфер (у рН 6,8). Розтерту масу перенести у вимірювальний циліндр на 25 мл, об'єм довести до позначки, залишити для екстракції на 10 хв. Екстракт від центрифугувати при 7000g.т

Для аналізу в три колби виміряти піпеткою по 5 мл екстракту. В першу з них (контрольну) одразу додати за допомогою вимірювального циліндра 3 мл 25% H₂SO₄. Далі в усі три колби внести піпеткою по 5 мл 0,1н H₂O₂ і помітити час. Інкубація – 10 хв. (точність). Після цього додати по 3 мл у дослідні колби 25% H₂SO₄ для зупинки реакції. Вміст усіх колб відтитрувати 0,05н KMnO₄ до слабо рожевого забарвлення.

Розрахувати активність ферменту за формулою:

$$X = ((T_K - T_0) 50 V) / (n \nu t),$$

де X – активність каталази, T_K і T_0 - об'єм KMnO₄, витрачені на титрування контрольної і дослідної проб відповідно, 50 – коефіцієнт перерахунку на мкмолі пероксиду водню, V – загальний об'єм екстракту, мл, n - наважка, г, ν - об'єм екстракту, взятий для аналізу, мл, t – час інкубації, хв. Для розрахунку використовують середні величини результатів титрування.

2.11. Визначення активності пероксидази у рослинному матеріалі

Пероксидаза належить до класу окисно-відновних ферментів, які каталізують окиснення та відновлення відповідного субстрату. Даний субстрат розглядається як донор протонів. Класичні пероксидази 1.11.1.7 – це гемопротейни, специфічні лише стосовно пероксиду водню. До складу пероксидаз входить група специфічних ензимів, серед яких слід виділити: аскорбатпероксидазу, глутатіонпероксидазу та ін. Пероксидаза каталізує окиснення багатьох органічних сполук: фенольні сполуки, цитохром с, нітрити, аскорбінова кислота, індоліламін, гідрокінони та їх аміни.

Мета: визначити активність пероксидази у рослинному матеріалі.

Обладнання: мірні колби, хімічні склянки, пробірки, піпетки, фарфорова ступка, кварцовий пісок, лійка, паперові фільтри, бюкси, спектрофотометр СФ-46, центрифуга, водяна баня, термометр.

Реактиви: ацетатний буфер (рН=5,4), дистильована вода, 1%-й розчин пероксиду водню, бензидин.

Об'єкт дослідження: рослинний матеріал.

Хід роботи

Активність пероксидази (КФ 1.11.1.7) визначають за методом Бояркіна, що заснований на визначенні швидкості реакції окиснення бензидину до утворення продукту окиснення синього кольору. Наважку рослинного матеріалу масою 200- 500 мг розтирають у фарфоровій ступці з водою або ацетатним буфером з рН=5,4 і переносять у мірну колбу на 50 мл. Після 10 хв настоювання витяжку центрифугують за частоти 4000 об/хв. Для визначення активності в дві кювети з робочою довжиною 10 мм кожна доливають по 2 мл ферментативної витяжки або центрифугату, 2 мл буферного розчину та 2 мл бензидину. Кювети

в КФК-2МП розташовують навпроти світлофільтрів. Вимірювання проводять з використанням червоного світлофільтра за довжини хвилі 590 нм. В контрольну кювету доливають 2 мл води, а в дослідну – 2 мл 0,3%-го пероксиду водню з піпетки з широким отвором. Після цього фіксують зміну оптичної густини через кожні 10 с протягом 60 с. Активність пероксидази виражають в умовних одиницях густини на 1 г сирової маси за хвилину. Зробіть висновок про активність пероксидази у рослинному матеріалі.

Контрольні запитання

1. Що таке обмін речовин і яке він має значення для рослин?
2. Які групи органічних сполук приймають участь в обміні речовин?
3. Типи обміну речовин на різних етапах онтогенезу.
4. Які органічні речовини називають речовинами вторинного обміну?.
5. Анаболізм і катаболізм (визначення).
6. Класифікація вуглеводів, їх значення
7. Класифікація білків, їх будова і значення для живої природи.
8. Головні етапи синтезу білку в рослинах.
9. Типи структур молекули білка.
10. Денатурація білка
11. Фактори, що викликають денатурацію білка.
12. Які існують якісні реакції на білок.
13. Чи всі білки можуть давати Біуретову реакцію. Обґрунтувати відповідь.
14. Яка хімічна природа жирів?
15. Яке значення мають жири у житті рослин ?
16. Де відкладаються ліпіди у рослин?
17. Основні властивості ліпідів, їх фізіологічне значення.
18. Чим відрізняються жири і олія?
19. Що таке емульсія?
20. За допомогою якої якісної реакції можна виявити жири у рослинах?
21. Які органічні речовини називають ферментами?.
22. Властивості ферментів.
23. Класифікація ферментів
24. Який хімічний склад крохмалю?
25. Чим відрізняється крохмаль та целюлоза?
26. Які ферменти приймають участь при гідролізі крохмалю?
27. Як впливає температури на активність ферментів?
28. Ізоферменти, визначення і значення для життя рослин.

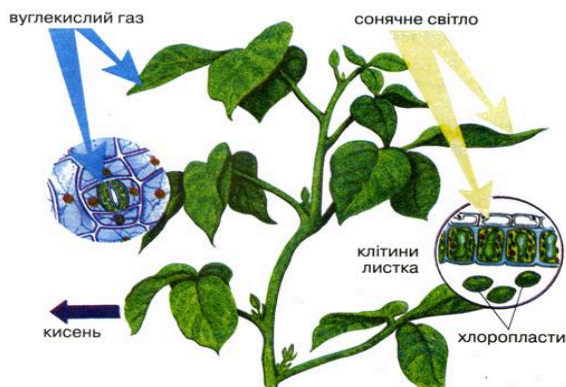
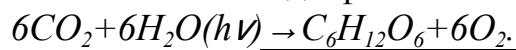
ТЕМА 3. ФОТОСИНТЕЗ

Фотосинтез – це процес утворення органічних речовин із карбон (IV) оксиду і води з використанням енергії світла, що відбувається в хлоропластах (пігментах) зелених рослин.

Відбувається фотосинтез, головним чином, у зелених листках. Завдяки плоскій формі листової пластинки лист має велику поверхню контакту з повітряним середовищем і сонячним світлом.

Фотосинтез відбувається у **хлоропластах**. У ході цього процесу за рахунок енергії сонячного світла рослина за допомогою зеленого **хлорофілу** листків утворює необхідні органічні речовини з неорганічних – вуглекислого газу і води.

Фотосинтез завжди підтримується кореневим харчуванням – поглинанням із ґрунту води і мінеральних солей. Без води фотосинтез не відбувається.



Фотосинтез — дуже складний багатоступеневий процес, що складається з двох основних етапів:

1 етап (світлова фаза) **Обов'язкова умова** — участь енергії сонячного світла! Початок процесу задає світло. Він активує хлорофіл (речовина, що міститься у хлоропластах). При цьому активований хлорофіл руйнує молекулу води на водень і кисень. Кисень виділяється в повітря.

У світловій фазі ф/с відбувається поглинання світла молекулами хлорофілу а за участю додаткових пігментів і трансформація Е світла у хімічну Е АТФ та відновленого НАД(Ф)Н. Це складна система фото-фізичних-хімічних реакцій, яка відбувається на мембранах хлоропластів.

2 етап (темнова фаза) або цикл Кальвіна. Цей етап фотосинтезу називають темновим, тому що тут всі процеси протікають без участі світла. На цьому етапі в ході безлічі хімічних реакцій за участю вуглекислого газу і активних компонентів, отриманих на першому етапі фотосинтезу утворюється органічна речовина (вуглевод) — **цукор (глюкоза)**.

С3-шлях ф/с (цикл Кальвіна). Американському біохіміку Кальвіну і його співробітникам за допомогою міченого $^{14}CO_2$ вдалося виявити первинний продукт ф/с. Ним виявилася 3-фосфогліцеринова кислота (ФГК). Потім ними ж було виявлено первинний акцептор CO_2 – рибульозо-1,5- дифосфат і всі інші реакції С3-шляху ф/с. Цикл Кальвіна складається з трьох етапів:

карбоксилювання, відновлення та регенерація.

1. карбоксилювання: 1) рибульозо-5-фосфат з участю АТФ фосфорилується і перетворюється на рибульозо-1,5-дифосфат – фосфорибульозокіназа; 2) поглинається CO_2 , що приєднується до рибульозо-1,5-дифосфату — рибульозо-дифосфаткарбоксилаза. Отриманий продукт зразу розкладається на 2 молекули 3-фосфогліцеринової кти, при цьому засвоюється вода.

2. відновлення: 3) 3-ФГК перетворюється на 1,3-дифосфогліцеринову кислоту — фосфогліцераткіназа+АТФ; 26 4) 1,3-диФГК за рахунок водню НАДФН2 і тріозофосфатдегідрогенази відновлюється й утворює 3-фосфогліцериновий альдегід;

3. регенерація первинного акцептора диоксиду вуглецю і синтез кінцевого продукту ф/с. В результаті вищеописаних перетворень при фіксації 3 молекул CO_2 і утворенні 6 молекул відновлених фосфотріоз, 5 із них ідуть на регенерацію рибульозо-5- фосфата, а одна – на синтез глюкози: 5) 3-ФГА під дією ферменту тріозофосфатізомеразі перетворюється на фосфодіоксіацетон; 6) 3-ФГА і фосфодіоксіацетон конденсуються – альдолаза – з утворенням фруктозо-1,6-дифосфата; 7) від фруктозо-1,6-дифосфату відщеплюється 1 фосфат і утворюється фруктозо-6-фосфат - гексозофосфатаза.

Лише 2 реакції у ф/с циклі є специфічними для фотосинтезуючих рослин, це - перша і друга. Таким чином, першим продуктом ф/с є ФГК, а кінцевим – фруктозо-6-фосфат.

Деякі рослини, наприклад, пеларгонія (герань облямована) або хлорофітум, мають «строкаті» листя. Їх білі ділянки утворені клітинами без хлоропластів.

Зріжемо один лист хлорофітума і опустимо його на 2-3 хвилини в окріп, потім — в гарячий спирт. Проміємо лист у воді і на 2-3 хвилини заллемо його слабким розчином йоду. У розчині йоду лист забарвиться в синій колір не повністю: біла смуга по краю листа не забарвиться. Чому?

У клітинах зеленої частини листа є **хлоропласти**, що містять **хлорофіл**. Саме в цих клітинах утворюється цукор, а потім крохмаль. У клітинах білої смужки по краю листа немає хлорофілу, і крохмаль тут не виявляється.

Крохмаль утворюється тільки у клітинах із хлоропластами.

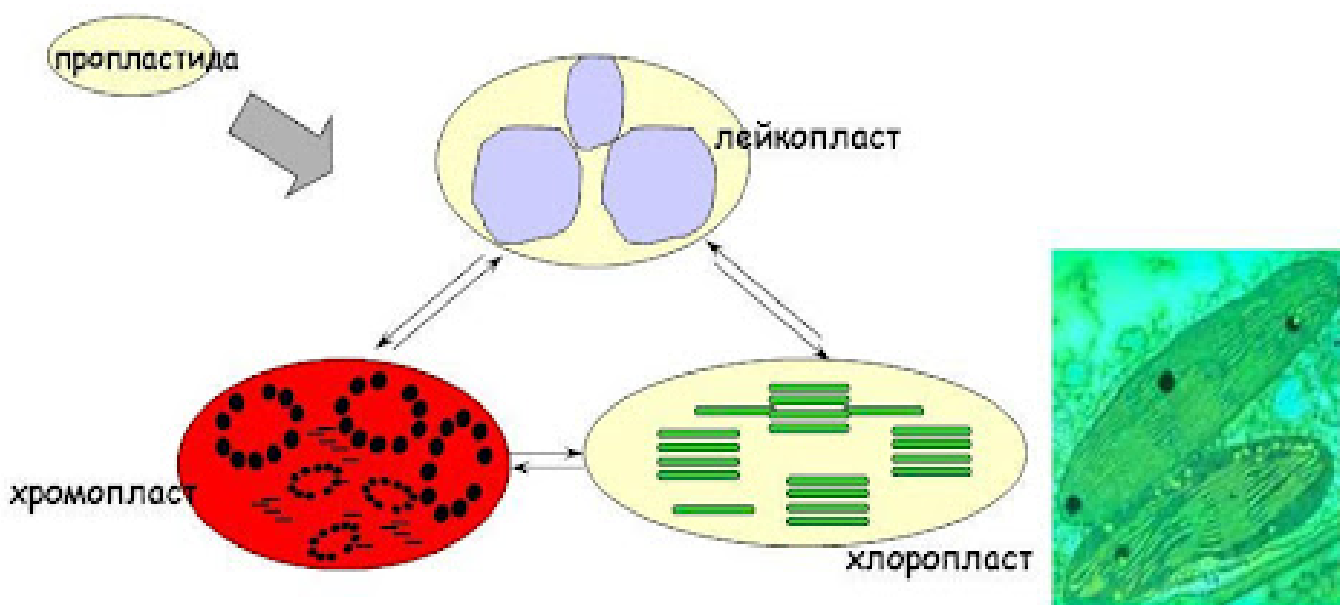
Пігменти – це сполуки, які вибірково поглинають світло у видимій (400-700 нм) частині спектра. Непоглинені ділянки сонячного спектра відбиваються, що і зумовлює забарвлення пігменту. Наприклад, зелений пігмент хлорофіл поглинає червоні і сині промені, тоді як зелені відбиваються. Пігменти пластид належать до трьох класів: хлорофіли, каротиноїди і фікобіліни. Найважливішу роль у процесі фотосинтезу відіграють хлорофіли. Зараз відомо близько 10 хлорофілів, які відрізняються за хімічним складом і забарвленням, поширенням у організмах. У вищих рослин зустрічається хлорофіл а $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$ та хлорофіл б $\text{C}_{55}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_4\text{Mg}$. Хлорофіли поглинають сонячні промені певної довжини, при цьому атом магнію віддає електрони зовнішнього електронного рівня, що запускає процес фотосинтезу. Каротиноїди – це жовті та оранжеві пігменти. До них належать б-каротин $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$, лютеїн $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$,

віолаксантин $C_{40}H_{56}O_4$. Вони забезпечують поглинання додаткових сонячних квантів, тобто виконують функцію світлозбирачів; крім того, переносять активний кисень. Фікобіліни зустрічаються переважно у водоростей. Фікоеритрин $C_{34}H_{47}N_4O_8$ має червоне забарвлення, фікоціан $C_{34}H_{42}N_4O_9$ – синє. Вони, як і каротиноїди, виконують роль збирачів додаткового сонячного світла.

Щоб детально вивчити хімічні і фізичні властивості пігментів, їх вилучають із зелених тканин рослин і відокремлюють один від одного. Пігменти зелених листків нерозчинні у воді, але добре розчиняються в ліпоїдних розчинниках. Їх можна екстрагувати зі свіжого і фіксованого матеріалу. Добираючи розчинники, слід враховувати розчинність самих пігментів. Залежно від хімічного складу розрізняють полярні (спирти, ацетон) і неполярні (бензин, петролейний ефір, гексан тощо) розчинники.

Зелені і жовті є ліпофільними сполуками, а тому добре розчиняються у всіх розчинниках: спирті, ацетоні, бензині, ефірі, петролейному ефірі тощо. Найкраще зелені пігменти екстрагуються з листків полярними розчинниками або сумішшю полярних і неполярних розчинників. У навчальних лабораторіях найчастіше пігменти з листків вилучають спиртом або ацетоном. Пігменти доцільно вилучати з листків різних екологічних груп рослин, різних ярусів рослини тощо.

3.1. Хімічні властивості пігментів листка



Формирование и взаимопревращение пластид



Мета: виділити пігменти з листка, розділити пігменти, визначати особливості хімічної будови.

Матеріали і обладнання: фарфорові ступки, свіжі листки різних рослин, скло, 96% розчин етилового спирту, фільтрувальний папір, пробірки, штативи, бензин, розчин соляної кислоти, ацетат міді.

Хлорофіли – це складні ефіри дикарбонової кислоти хлорофіліну, в якій одна карбоксильна група етерифікована залишком метилового спирту, а друга – залишком спирту фітолу, за рахунок якого виникає взаємодія хлорофілу з мембранами хлоропластів. COOCH_3 залишок метилового спирту $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{ON}_4\text{Mg}$ хлорофілін $\text{COOC}_{20}\text{H}_{39}$ залишок спирту фітолу. Основні оптичні властивості пігментам надають структури, в яких є подвійні зв'язки. В хлорофілі – це порфіринове ядро, що складається з чотирьох пірольних кілець і атома Mg, а в каротиноїдах – це карбоно-гідрогенний ланцюг із подвійними зв'язками. Хлорофіли – сполуки, що вибірково поглинають світло у видимій частині сонячного спектра. Максимуми його поглинання знаходяться у синьофіолетовій і червоній частині спектра. В розчині хлорофілу положення максимумів поглинання залежить від розчинника, а в листку – від взаємодії молекул хлорофілу між собою, з іншими пігментами, білками та ліпідами. У етиловому спирті максимуми поглинання хлорофілів а у червоній частині спектра перебувають у межах 660-663 нм, у синій – 428-430, хлорофілу b – відповідно 642-644 та 452-455 нм.

В основу структури **каротиноїдів** входять довгі поліізопренові ланцюги або їхні похідні. За хімічною природою всі вони є полімерами ізопрену.

Довжина ланцюгів досягає 3 нм і часто закінчується шестичленними циклами. Безоксигенні каротиноїди – каротини мають хімічну формулу $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$. Вони містяться в усіх зелених частинах рослини, а також у коренеплодах моркви, брукви та різних плодах. Усі хребетні тварини здатні розщеплювати в процесі травлення β -каротин із утворенням двох молекул вітаміну А.

Окислені каротиноїди – **ксантофіли**, постійні супутники і похідні каротинів, мають хімічні формули $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$ (лютеїн, зеаксантин), $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}$

(криптоксантин), $C_{40}H_{60}O_6$ (фукоксантин). Каротиноїди поглинають світло у синьо-фіолетовій частині спектра від 400 до 500 нм і передають енергію на хлорофіл, тобто у процесі фотосинтезу їх роль допоміжна. Вони захищають хлорофіл, клітини і тканини від шкідливого впливу надлишку світла окислення киснем, який виділяється при фотосинтезі, беруть участь в окисно-відновних реакціях, а також відіграють важливу роль у генеративних процесах рослин.

Для виділення пігментів використовують органічні розчинники, в першу чергу це спирт і ацетон. Як розчинник може бути використаний бензин. У ньому найкраще розчиняються хлорофіли.

Хід роботи

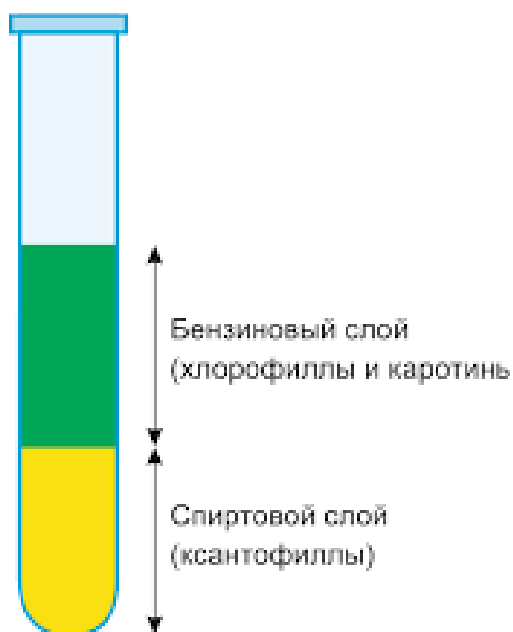
Свіжі листки нарізають ножицями, кладуть у ступку і розтирають до однорідної маси. Для нейтралізації кислот клітинного соку додають $CaCO_3$ (на кінчику ланцета). Потім додають 10 мл етилового спирту і суміш старанно розтирають до забарвлення спирту в інтенсивний колір. Після цього розтерту масу фільтрують, зливаючи її по скляній паличці на паперовий фільтр, розташований на пробірці. Отримують прозорий зелений розчин суміші пігментів.

3.2. Розподіл пігментів за методом Крауса (лабораторна робота)

В основі методу лежать хімічні властивості пігментів по-різному розчиняються у спирті і бензині. Вказані розчинники при зливанні не змішуються і утворюють дві фази верхню – бензинову і нижню – спиртову. Завдяки цьому відбувається розподіл компонентів суміші.

Хід роботи

У пробірку наливають 2-3 мл спиртової витяжки, додають рівний об'єм бензину і 2-3 краплі води. Потім вміст пробірок різко перемішують і залишають для відстоювання. Ставлять пробірку в штатив і спостерігають за розшаруванням емульсії. В міру розшарування, верхній шар бензину забарвлюється в зелений колір завдяки кращій розчинності в ньому хлорофілу. В цьому шарі міститься каротин, але його забарвлення маскується хлорофілом так само як і в зеленому листку. У нижньому спиртовому шарі залишається ксантофіл, а тому цей шар матиме золотисто-жовте забарвлення. Якщо нижній шар помутніє (від надлишку води), то необхідно додати кілька крапель спирту, знову інтенсивно перемішати і залишити до розшарування емульсії. Роблять рисунок розподілу пігментів і висновки про здатність до розчину пігментів у різних органічних розчинниках.



3.3. Омилення хлорофілу лугом

За хімічною будовою хлорофіли – складні ефіри дикарбонової органічної кислоти – хлорофілінова і двох залишків спиртів – фітолу і метилового. Хлорофілінова кислота являє собою нітрогенвмісну металорганічну сполуку, що належить до магнійпорфіринів. У хлорофілі гідроген карбоксильних груп заміщений залишками двох спиртів – метилового CH_3OH і фітолу $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{OH}$, тому хлорофіл є складним ефіром. Наявність у молекулі хлорофілу активних хімічних груп зумовлює його реакційну здатність. Наприклад, при обробці хлорофілу лугом, ефірні зв'язки омилюються, в результаті чого від його молекули відщеплюються спирти (фітол і метанол): $\text{COOCH}_3 \text{ C}_{32}\text{H}_{30}\text{ON}_4\text{Mg} + 2\text{KOH} \rightarrow \text{COOK C}_{32}\text{H}_{30}\text{ON}_4\text{Mg} + \text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{OH} + \text{CH}_3\text{OH COOK}$

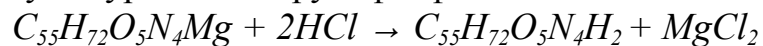
Другий продукт, що утворюється під час реакції – лужна сіль хлорофілінової кислоти, яка зберігає зелене забарвлення і оптичні властивості хлорофілу.

Хід роботи

У пробірку наливають 2-3 мл спиртової витяжки пігментів, додають 1 мл 20% розчину KOH або NaOH . Екстракт ставлять у водяну баню, доводять до кипіння, виймають і охолоджують. До охолодженої суміші додають рівний об'єм бензину і 2-3 краплі води. Вміст пробірок різко перемішують і залишають для відстоювання. У бензиновий шар переходять каротин і ксантофіл, а в спиртовий – натрієва сіль хлорофілінової кислоти. На основі отриманих результатів роблять рисунок, пояснюють розподіл пігментів.

3.4. Добування феофітину і зворотна заміна гідрогену атомом металу

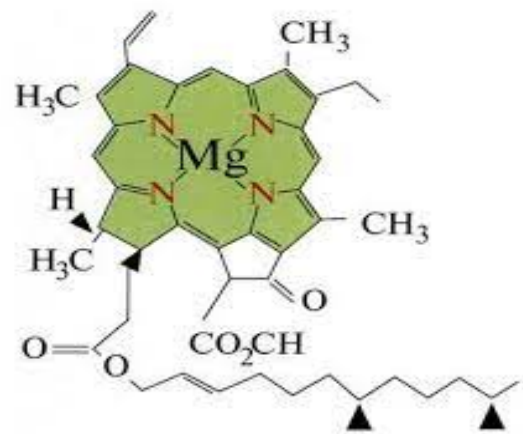
Атом магнію порівняно слабо утримується в порфіриновому ядрі і при обережній дії сильних кислот легко заміщується двома протонами, при цьому утворюється сполука бурого кольору – феофітин.



Така реакція має місце при утворенні бурих плям на листках під дією високих температур у жаронестійких рослин і може бути використана для лабораторного визначення жаростійкості рослин. Якщо на феофітин подіяти солями міді або цинку, то замість двох протонів у ядро входить подвійний метал, зворотньо відновлюється металоорганічний зв'язок і з'являється знову зелене забарвлення. Отже, забарвлення хлорофілу залежить від наявності металоорганічного зв'язку в його молекулі.

Хід роботи

У дві пробірки наливають 2-3 мл спиртової витяжки пігментів і додають 2-3 краплі 10% розчину соляної кислоти та легко збовтують. Під дією кислоти зникає зелене забарвлення, і витяжка набуває оливково-бурого кольору, утворюється сполука, що дістала назву феофітину. Далі одну пробірку залишають як контрольну, а в



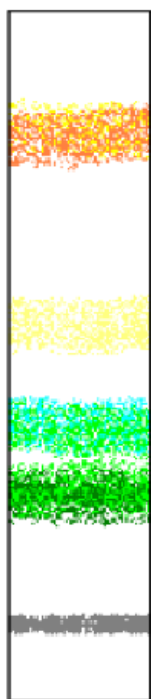
другу вносять невелику кількість ацетату міді й нагрівають на водяній бані. При цьому оливково-буре забарвлення зникає і знову з'являється зелене в результаті відновлення металоорганічного зв'язку і утворення металозаміщеного хлорофілу. Під час роботи роблять рисунок пробірки з феофітином і металозаміщеним хлорофілом та висновки про залежність оптичних властивостей пігменту від наявності в молекулі магнію.

3.5. Розподіл пігментів адсорбційним хроматографічним методом

Мета роботи. Ознайомитись з адсорбційним хроматографічним методом розподілу компонентів із суміші пігментів.

Матеріали, реактиви, обладнання. Спиртовий екстракт пігментів з листків різних рослин, фільтрувальний папір, хімічні склянки, чашки Петрі, ножиці.

Вперше швидкий метод розподілу окремих компонентів із суміші фотосинтезуючих пігментів запропонував у 1904 году М.С. Цвет шляхом адсорбційної хроматографії на колонках. Адсорбційна хроматографія ґрунтується на властивості речовини, які зазнають розподілу, вибірково адсорбуватися з розчинника на твердому порошкоподібному адсорбенті. Вона у свою чергу поділяється на молекулярну та іонообмінну. Для розподілу досліджувану суміш пропускають крізь колонку, наповнену адсорбентом (сахароза, карбонатом кальцію, клітковина, крохмаль, сілікагель та ін.). Компоненти суміші адсорбуються на матеріалі колонки під дією молекулярних сил. Для шкільного компоненту суміші ці сили неоднакові, тому, коли суміш пропускають крізь кулю сорбенту, різні її компоненти розташовуються в колонці сорбенту у вигляді окремих зон з різним забарвленням. Отже, всі компоненти досліджуваної суміші перелогових від відносної адсорбційної спорідненості до сорбенту утворюватимуться певний адсорбційний ряд



Каротин

Ксантофілл

Хлорофілл *a*

Хлорофілл *b*

Лінійя старта

Хід роботи

Цей метод розділення пігментів заснований на різних щаблях поглинання пігментів адсорбуючими речовинами. Такою речовиною може виступати фільтрувальний папір. У хімічну склянку приблизно на висоті 10 мм наливають спиртовий екстракт суміші пігментів. У нього занурюють смужку фільтрувального паперу (10 мм завширшки та завдовжки 100 мм). Зелені пігменти адсорбуються сильніше, тому на папері з'являються спочатку зелена смужка хлорофілу, потім вище за них - жовта (каротину и ксантофілу), и нарешті - найвища смуга - безколірна від чистого спирту.

На смужку хроматографічного паперу нанести олівцем стартову лінію на відстані 2 см від краю. У хімічний стакан налити спиртового розчину пігментів завтовшки 5 мм. Опустити в нього хроматографічний папір таким чином, щоб пігменти підтягувалися й концентрувалися біля стартової лінії. Як тільки пігменти дійдуть до стартової лінії, хроматографічний папір виймають зі стакану і просушують на повітрі. Цю операцію повторити кілька разів до утворення чіткої зеленої смуги пігментів на стартовій лінії. У чистий хімічний стакан замість спиртового розчину пігментів налити бензин шаром 3 мм. Покласти туди хроматографічний папір і залишити на 10 хв. Для розподілення пігментів. Найвище по хроматографічному паперу підніметься каротин, за ним буде ксантофіл, потім хлорофіл **a** і, нарешті хлорофіл **b**/

Контрольні запитання

1. Фотосинтез як унікальний у загальнобіологічному значенні процес.
2. Біосферна роль зелених рослин.
3. Загальне рівняння фотосинтезу.
4. Характеристика пігментів групи хлорофілів.
5. Характеристика каротиноїдів.
6. Світлова фаза фотосинтезу
7. Фотофосфорилування – циклічне, нециклічне та псевдоциклічне.
8. Темнова фаза фотосинтезу. Цикл Кальвіна (С-3 шлях фотосинтезу).
9. Цикл Хетча і Слейка (С-4 шлях фотосинтезу, кооперативний фотосинтез). Різновиди С-4 шляхів фотосинтезу. Значення С-4 фотосинтезу.
10. САМ-фотосинтез (кислотний метаболізм, метаболізм по типу товстянкових).
11. Фотодихання (С-2 шлях фотосинтезу, гліколатний цикл).
12. Показники, що характеризують фотосинтез. Фактори, що впливають на процес фотосинтезу: світло, CO_2 , O_2 , температура, оводненість тканин, умови мінерального живлення.
13. Як дослідним шляхом одержати феофітин? Як взаємодіє кислота на молекули хлорофілу.

ТЕМА 4. МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН

Живлення рослин - це термін, який враховує взаємозв'язки мінеральних елементів в ґрунті або в ґрунтовому розчині, а також їх роль в процесі росту і розвитку рослин. Цей взаємозв'язок включає в себе складний баланс мінеральних елементів, необхідних для оптимального росту і розвитку рослин.

Мінеральне живлення - це поглинання рослинами необхідних мінеральних елементів і включення їх до обміну речовин. Вищі рослини переважно кількість цих елементів поглинають через кореневу систему, тому це живлення називають також кореневим живленням. Воно є одним із основних факторів регуляції росту, розвитку і продуктивності рослин. Кореневе живлення є головним, а позакореневе – допоміжним.

Серед механізмів поглинання речовин виділяють: дифузію, обмінну адсорбцію, кореневе перехоплення, контактний обмін, масовий потік, роботу іонних насосів, транспортування іонів білками – переносниками, рух іонів за градієнтом трансмембранного потенціалу, піноцитоз, обмінні процеси. Теоретичні основи мінерального живлення розроблені вегетаційним методом у дослідках з водними та іншими культурними рослинами.

Існує близько 20-ти елементів живлення, яких рослини потребують для свого росту і розвитку:

- ✓ вуглець (С), водень (Н) і кисень (О) засвоюються з повітря і води;
- ✓ макро та мезоеlementи: азот (N), фосфор (P), калій (K), кальцій (Ca), магній (Mg) і сірка (S), потрібні рослинам у великих кількостях.
- ✓ мікроelementи, яких рослини потребують у невеликих кількостях.

До основних мікроelementів належать бор (B), хлор (Cl), мідь (Cu), залізо (Fe);

Існують також мікроelementи, наприклад кремній (Si) і кобальт (Co), які є особливо важливими для деяких культур. Наприклад, кобальт необхідний для фіксації азоту у бобових. Було виявлено, що кремній, накопичений в клітинних стінках, покращує стійкість рослин до посухи і підвищує стійкість до шкідників і грибкових інфекцій.

Більш комплексний підхід до живлення рослин не буде обмежуватися поживними речовинами, необхідними для виживання рослин, а буде включати мінеральні елементи на рівнях, сприятливих для їх оптимального росту.

Наводимо перелік необхідних і корисних елементів живлення, які мають головне значення для росту і розвитку рослин.

Методи дослідження мінерального живлення рослин.

Лабораторний метод досліджень.

Веgetаційний метод досліджень.

Польовий метод досліджень.

Виробничий метод досліджень.

Лабораторний - використовують різні субстрати для вирощування рослин. В лабораторних умовах були розроблені поживні суміші для вивчення впливу того чи іншого елементу живлення на рослини.

Суміш Кнопа:

Ca(NO₃)₂ - 1 г/л;

KH_2PO_4 - 0,25 г/л;

MgSO_4 - 0,25 г/л;

KCl - 0,125 г/л;

FeCl_3 - сліди.

Також є суміші Гельрігеля та Прянішнікова.

При складанні поживних сумішей існують певні вимоги:

Всі елементи мінерального живлення повинні бути урівноважені.

Жоден елемент не може бути замінений іншим.

Елементи мають бути у певних співвідношеннях.

pH повинно бути 6,5-7.

Існують фізіологічно кислі, лужні та нейтральні солі. З кислих солей в першу чергу поглинається катіон (HCl), з лужних - аніон (NaNO_3). З нейтральних солей поглинається і катіон і аніон (NH_4NO_3).

Вегетаційний дослід проводять у контрольованих умовах. Субстрат розміщують у посудину, додають елементи живлення, висаджують рослини та спостерігають за їх розвитком.

Польовий дослід проводиться у польових умовах на дослідній ділянці.

Виробничий дослід виконується у виробничих умовах.

Які макроелементи живлять рослину?

Азот є основним компонентом білків, гормонів, хлорофілу, вітамінів і ферментів, необхідних для життя рослин. Азотистий обмін є основним фактором росту стебел і листя (вегетативний ріст). Надлишок азоту може затримати цвітіння і плодоношення. Недостача азоту може знизити рівень врожайності, викликати пожовтіння листя. Азотні добрива.

Фосфор необхідний для проростання насіння, фотосинтезу, утворення білка і обміну речовин в рослинах. Це важливо для формування квітів і плодів. Низький pH (<4) призводить до того, що фосфат хімічно блокується в органічних ґрунтах. Симптомами дефіциту є пурпурний колір стебла і листя; дозрівання і зростання затримуються. Може спостерігатися передчасне опадання квітів і плодів. Вносити фосфор потрібно близько до коренів, щоб рослина могла його засвоювати і використати. Фосфорні добрива.

Калій необхідний для утворення цукрів, крохмалю, вуглеводів, синтезу білка і ділення клітин в коренях і інших частинах рослини. Допомогає регулювати водний баланс, покращує жорсткість і морозостійкість стебла, покращує смакові якості плодівих і овочевих культур. Недостача калію призводить до зниження врожайності. Спостерігається плямистість або скручення листя. Комплексні добрива.

Які Мезоелементи живлять рослину?

Сірка є структурним компонентом амінокислот, білків, вітамінів і ферментів і необхідна для виробництва хлорофілу. Недостаток проявляється у вигляді світло-зеленого кольору листя.

Магній є критичним структурним компонентом молекули хлорофілу і необхідний для функціонування рослинних ферментів для виробництва вуглеводів, цукрів і жирів. Він використовується для формування плодів і горіхів і необхідний для проростання насіння. Дефіцитні рослини виглядають

хлоротичними, проявляються міжжилковий хлороз більш старого листя.

Кальцій активує ферменти, є структурним компонентом клітинних стінок, впливає на рух води в клітинах і необхідний для росту і ділення клітин. Деякі рослини повинні мати кальцій для поглинання азоту та інших мінералів. Кальцій легко вилугується. Дефіцит викликає затримку росту у стебел, квітів і коренів. Симптоми варіюються від спотвореного новоутворення до чорних плям на листках і плодах.

Які Мікроелементи живлять рослину?

Залізо необхідно для багатьох ферментних функцій і як каталізатор для синтезу хлорофілу. Це важливо для молодих зростаючих частин рослин. Нестача проявляється блідим кольором молодого листя молодог з подальшим пожовтінням. Залізо втрачається при вилугуванні і утримується в нижніх частинах структури ґрунту. В умовах високого рН (лужного) залізо стає недоступним для рослин. Коли ґрунт є лужними, заліза може бути достатньо, але воно недоступно для рослин. Застосування **мікродобрив, що містять залізо у хелатній формі**, має вирішити цю проблему.

Марганець бере участь в ферментативній активності для фотосинтезу, дихання і метаболізму азоту. Дефіцит в молодому листі схожий на дефіцит заліза. На пізніх стадіях світло-зелені частини стають білими, а листя опадає. Поруч з жилками можуть з'явитися коричневі, чорні або сірі плями. На нейтральних або лужних ґрунтах рослини часто виявляють симптоми дефіциту.

Бор необхідний для формування клітинної стінки, цілісності мембрани, засвоєння кальцію та допомагає в переміщенні цукрів. Бор впливає як мінімум на 16 функцій у рослин. Ці функції включають цвітіння, проростання пилку, плодоношення, поділ клітин, рух гормонів. Бор повинен бути доступний протягом усього життя рослини. Він не переміщається і легко вимивається з ґрунтів. Дефіцит бору добре проявляється на плодах, бульбах і корінні, які при цьому знебарвлюються, розтріскуються і покриваються коричневими плямами. Внесення **мікродобрив, що містять бор**, можна вирішити проблему нестачі цього елемента. Особливо важливо застосовувати борвмісні добрива на борофільних культурах (соняшник, ріпак).

Цинк є компонентом ферментів, включаючи ауксини (гормони росту рослин). Це важливо для вуглеводного обміну, синтезу білка і подовження міжвузля (зростання стовбура). Дефіцитні рослини мають плямисті листя з неправильними хлоротичними ділянками. Дефіцит цинку призводить до дефіциту заліза, викликаючи аналогічні симптоми. Дефіцит виникає на еродованих землях і найменш доступний в діапазоні рН від 5,5 до 7,0.

Мідь концентрується в коренях рослин і грає роль в азотистому обміні. Мідь є компонентом декількох ферментів і може бути частиною ферментних систем, в яких використовуються вуглеводи і білки. Дефіцит призводять до відмирання кінчиків пагонів, а на термінальних листках з'являються коричневі плями. Мідь тісно пов'язана з органічними речовинами.

Молібден є структурним компонентом ферменту, який відновлює нітрати до аміаку. Без цього синтез білків блокується і зростання рослин припиняється. Кореневі бульбочкові (азотфіксуючі) бактерії також мають потребу в цьому

елементі. Насіння можуть утворюватися в повному обсязі, а дефіцит азоту може виникнути, якщо рослинам не вистачає молібдену. Ознаками нестачі є блідо-зелене листя з закругленими або чашоподібними краями.

Хлор бере участь в осмосі (рух води або розчинених речовин в клітинах), іонному балансі, необхідному рослинам для засвоєння мінеральних елементів і в фотосинтезі. Симптоми дефіциту включають в'янення, коротке коріння, хлороз (пожовтіння). Запах у деяких рослин може бути зменшений. Хлорид, іонна форма хлору, використовується рослинами, зазвичай знаходиться в розчинних формах і втрачається при вилюговуванні. Деякі рослини можуть проявляти ознаки токсичності, якщо рівень дуже високий.

Нікель необхідний для поглинання заліза. Насіння потребують цей елемент для проростання. Якщо є дефіцит нікелю, рослини можуть не дати життєздатного насіння.

Натрій бере участь в осмотичному (рух води) і іонному балансі у рослин.

Кобальт необхідний для фіксації азоту в бобових культурах. Дефіцит може спричинити дефіцит азоту.

Кремній є компонентом клітинних стінок. Кремній значно підвищує стійкість рослин до тепла і посухи. Позакореневе підживлення **мікродобривами, що містили кремній** сприяло зменшенню популяцій попелиці на польових культурах. Випробування також показали, що кремній може відкладатися рослинами в місці зараження грибковими хворобами.

4.1. Визначення нітратів

Мета: засвоїти експрес-метод визначення потреби рослин в азоті.

Обладнання: предметне скло, фільтрувальний папір, скляні палички, кольорова шкала, леза.

Реактиви: 1 %-й дифеніламін в H_2SO_4 . Об'єкт дослідження: горох, пшениця, кукурудза, кімнатні рослини. Вступні пояснення Азот – одна з найпоширеніших речовин у біосфері, вузькій оболонці Землі, де підтримується життя. Так, 79 % повітря, яким ми дихаємо, складається з цього елемента. Основна частина атмосферного азоту знаходиться у вільній формі, за якої два атоми азоту з'єднані разом, утворюючи молекулу азоту – N_2 . Оскільки зв'язки між двома атомами дуже міцні, живі організми не здатні безпосередньо використовувати молекулярний азот – його спочатку необхідно перевести в «зв'язаний» стан. У процесі зв'язування молекули азоту розщеплюються, даючи можливість окремим атомам азоту брати участь у хімічних реакціях з іншими атомами, наприклад киснем, і, таким чином, перешкоджаючи їм знову об'єднуватися в молекулу азоту. Зв'язок між атомами азоту й іншими атомами досить слабкий, що дозволяє живим організмам засвоювати ці елементи. Тому зв'язування азоту – надзвичайно важлива частина життєвих процесів на нашій планеті. Сполуки азоту також беруть участь у хімічних процесах, що відбуваються в атмосфері, і впливають на клімат. Азот у формі неорганічних сполук, таких як нітрати у ґрунті, абсорбується рослинами і перетворюється на органічні сполуки у тканинах рослин. Нітрати – солі азотної кислоти, яких дуже

багато в навколишньому середовищі, наприклад у ґрунті або воді. Азот поряд з фосфором і калієм становить основу живлення рослин, у тому числі й овочів. Нітрати входять до складу багатьох добрив, наприклад калійна селітра (нітрат калію), кальцієва селітра (нітрат кальцію), аміачна селітра (нітрат амонію) і под. За певних умов нітрати можуть з'єднуватися із вторинними і третинними амінами, утворюючи нітрозаміни, які є канцерогенами. Нітрити ослабляють захисні системи організму. У разі надлишку в ґрунті нітратів рослини здатні поглинати їх у великих кількостях. У цьому випадку тільки частина нітратів перетворюється в рослинний білок, інша кількість накопичується в овочах і травах у чистому вигляді, а потім надходить в організм людини в процесі вживання цих рослин у їжу.

Хід роботи

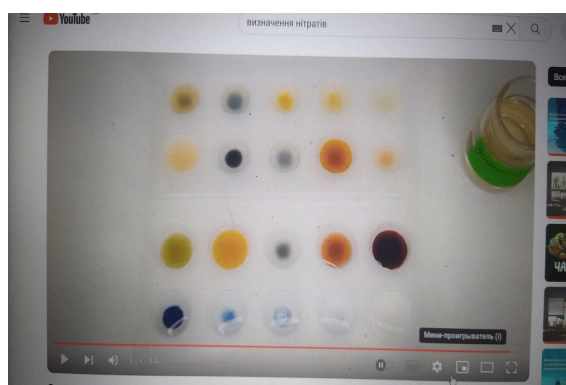
Свіжі зрізи з рослини розміщують на предметному склі з проміжками в 1-2 см. Потім на кожен зріз наносять по одній краплі 1%-го розчину дифеніламіну в сірчаній кислоті. Інтенсивність забарвлення зрізів порівнюють за кольоровою шкалою та визначають кількість балів за табл.3

Таблиця 3. Шкала потреби рослин в азотних добривах

Бал забезпеченості	Візуальні ознаки забарвлення зрізу	Вміст нітратів	Потреба рослини в азоті
1	Блідо-голубе, дуже швидко настає обуглення	Низький	Гостра
2	Синє, поступово зникає	Середній	Середня
3	Темно-синє або темнофіолетове, настає швидко, стійке	Високий	Забезпечені



Сік овочів до додавання дифеніламіну



Сік овочів після додавання дифеніламіну

Зробіть висновок про вміст нітратів у рослинних зразках та потребу рослини в азоті.

4.2. Визначення фосфатів

Мета: засвоїти експрес-метод визначення потреби рослин у фосфорі.

Обладнання: предметне скло, фільтрувальний папір, скляні палички, кольорова шкала, леза.

Реактиви: $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, бензидин, насичений водний розчин CH_3COONa .
Об'єкт дослідження: горох, пшениця, кукурудза, кімнатні рослини.

Фосфати – солі фосфатної кислоти. Оскільки фосфатна кислота є трьохосновна, від неї походять три ряди солей, наприклад: $\text{H}_3\text{PO}_4 + \text{NaOH} = \text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{H}_2\text{O}$; $\text{H}_3\text{PO}_4 + 2\text{NaOH} = \text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{H}_3\text{PO}_4 + 3\text{NaOH} = \text{Na}_3\text{PO}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$. Першу з цих солей називають дигідрофосфатом натрію, другу – гідрофосфатом натрію, а третю – нормальним (середнім) фосфатом натрію. Дигідрофосфати металів у воді розчиняються добре. Усі нормальні фосфати, за винятком фосфатів натрію, калію і амонію, у воді нерозчинні. Гідрофосфати за своєю розчинністю у воді займають проміжне місце між дигідрофосфатами і нормальними фосфатами. Але малорозчинні у воді гідрофосфати та нерозчинні нормальні фосфати легко розчиняються навіть у слабких органічних кислотах. Фосфор також дуже потрібен рослинам. Його не можна замінити ніяким іншим елементом. Він обов'язковий компонент складних білків. Достатня кількість фосфору сприяє кращому засвоєнню азоту, калію, магнію. Фосфор прискорює утворення та досягання плодів. За його нестачі сповільнюється ріст, цвітіння, зав'язування та досягання плодів.

Хід роботи

На пляму соку, нанесеного на фільтрувальний папір і на зріз на предметному склі, наносять краплями послідовно розчини молібденовокислого амонію, бензидину та насиченого водного розчину оцтовокислого натрію. Інтенсивність забарвлення порівнюють з кольоровою шкалою.

4.3. Визначення калію

Мета: засвоїти експрес-метод визначення потреби рослин у калії.

Обладнання: предметне скло, фільтрувальний папір, скляні палички, кольорова шкала, леза.

Реактиви: 5 %-й кобальт-нітрит натрію, HCl (3:1).

Об'єкт дослідження: горох, пшениця, кукурудза, кімнатні рослини.
Вступні пояснення Калій не входить до складу органічних сполук, але відіграє важливу роль у процесі утворення вуглеводів, підвищує стійкість рослин до хвороб, холодостійкість, впливає на смак овочів. Особливо багато калію виносять з ґрунту коренеплоди. За його нестачі сповільнюється ріст, рослини виростають низькорослі та кволі. Зокрема, листки у рослин стають крихкими, із закрученими догори краями. Хлорозна тканина буріє і відмирає. У капусти, наприклад, краї нижніх листків світлішають, жовкнуть, буріють і відмирають. На торфових ґрунтах сильно виявляється зморшкуватість листків, головки пухкі й дрібні. У помідорів на краях листків з'являються плями бронзового відтінку, потім утворюється суцільна кайма з відмерлих тканин. У огірків листки темно-зелені, куполоподібні. Краї нижніх листків жовтіють і відмирають. Плоди

помітно розширені у верхній частині. У цибулі кінці старих листків стають сірувато-жовтими, соломисто-жовтими і в'януть. У моркви листки закручуються, їх краї буріють, зелене забарвлення поступово змінюється, стає сіруватим, а потім бронзовим. У разі нестачі калію ріст рослин припиняється, вони стають карликовими, верхні бруньки відмирають, корені таких рослин короткі, товсті й ослизнені. У помідорів верхні листки жовтіють, а нижні залишаються зеленими, рослини кволі, ростові точки відмирають. Коренева система невелика і сильно розгалужена, плоди пошкоджуються верхівковою гниллю. Хід роботи На предметному склі розміщують зріз тієї чи іншої рослини. Потім його придавлюють. На одержану пляму соку і на зріз наносять краплю 5 %-го розчину кобальт-нітриту натрію. Через 1-2 хв додають 1-2 краплі соляної кислоти, розведеної в співвідношенні 3:1. Через 3-5 хв порівнюють інтенсивність забарвлення осаду з кольоровою шкалою для визначення калію і роблять висновки.

4.4. Мікрохімічний аналіз золи

Серед усіх поживних елементів у рослин 24 хімічні елементи є життєво необхідними, 21 елемент вважають умовно необхідними. **Життєво необхідні** – це елементи, без яких рослина не може повністю закінчити цикл свого розвитку і які не можуть бути заміненими іншими елементами. Фізіологічне значення умовно необхідних елементів остаточно не досліджено. Елементи, необхідні рослинам, відносяться до різних груп періодичної системи елементів Менделєєва. Наразі слід зазначити, що у високих концентраціях більшість елементів токсичні для рослин. Для встановлення хімічного складу золи застосовують мікрохімічний метод – якісні реакції, в результаті яких утворюються характерні для певних речовин кристали або забарвлення розчину.

Цей метод не потребує значної кількості матеріалу. Аналіз дає змогу виявляти як макро-, так і мікроелементи.

Мета роботи. Ознайомитися з мікрохімічними (крапельними) методами аналізу елементів і визначити елементний склад листків залежно від умов живлення та віку рослин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Зола листків різних видів рослин; дистильована вода, аміак, водний розчин соляної кислоти, 1 %-ві розчини: сірчаної кислоти, фосфату натрію, жовтої кров'яної солі, тартрату натрію, щавлевої кислоти,; пробірки (по чотири на учня), скляні палички, штативи для пробірок, предметні стекла, маленькі лійки, мікроскопи, фільтрувальний папір, порцелянові пластинки.

Хід роботи

Мінеральні речовини, що входять до складу золи, розчинні у воді, або кислоті. Тому для мікрохімічного аналізу готують два розчини золи: у воді і в 1 %-й соляній кислоті.

1. Приготування водної і кислотної витяжки золи – у дві пробірки внести по 1 см³ золи та додати: в першу 5 мл води, а в другу – 5 мл 1 %-ї HCl, розчини ретельно перемішати скляною паличкою (для кожної пробірки окремою). За 2 -

3 хв. відфільтрувати крізь паперовий фільтр у чисті сухі пробірки.

2. На предметне скло на відстані 1 см нанести краплину витяжки золи (водної або кислотної, відповідно до елемента, який визначається) і краплину відповідного реактиву.

Виявлення калію Для реакції використовують як водну, так і кислотну витяжку золи залежно від реактивів. Реактив тартрату натрію однозаміщеного $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ з нейтральним розчином солей калію утворює кристали тартрату калію однозаміщеного $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ у вигляді великих призм і пластинок. Для реакції використовують водний розчин, який обов'язково доводять до нейтрального рН, оскільки кристали тартрату калію однозаміщеного добре розчиняються в кислотах і лугах.

Виявлення кальцію. Для реакцій на кальцій і наступні елементи використовують кислотну витяжку золи. Реактив – сірчана кислота. Відбувається реакція: $\text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{CaSO}_4 + 2\text{HCl}$. У результаті реакції утворюються характерні довгі тонкі голки гідратованого сульфату кальцію $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (гіпс), потім голки об'єднуються в структури, що нагадують сніжинки, які накопичуються одна на одну. Голки можуть переходити в тонкі призми та маси пластинок, що накопичуються одна на іншу. Реактив – щавлева кислота. У результаті реакції випадають кристали оксалату кальцію ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) у вигляді октаєдрів, кубів, інколи хрестів.

Виявлення магнію. Реактив – фосфат натрію Na_2HPO_4 . Спочатку в краплину досліджуваної рідини додають краплину аміаку для нейтралізації і вже потім з'єднують із реактивом дугоподібним каналом. Відбувається реакція: $\text{MgCl}_2 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NH}_3 \rightarrow \text{NH}_4\text{MgPO}_4 + 2\text{NaCl}$. У результаті реакції утворюються кристали фосфорно-аміачно-магnezіальної солі у вигляді кришечок, сніжинок, крил, квадратів, прямокутників, зірок

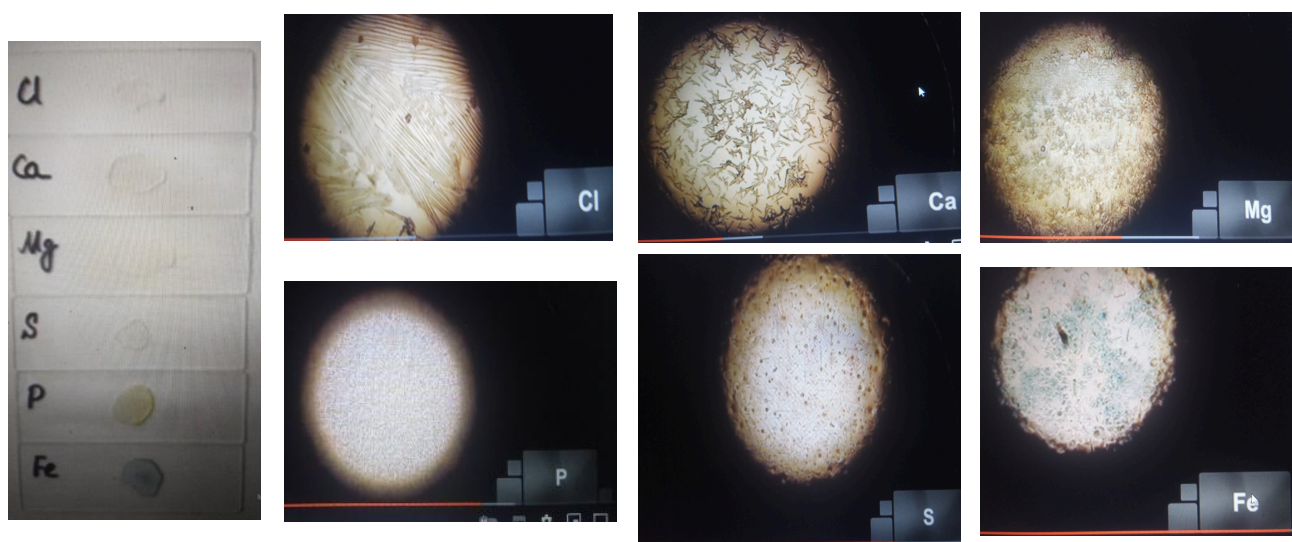


Рис. 1.4. Результати мікрохімічного аналізу записати, або замалювати.
(виписати реакції та описати спостереження)

Виявлення заліза. Реактив – жовта кров'яна сіль $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$. Реакція відбувається у пробірці або на порцеляновій пластинці. До кількох краплин

досліджуваної рідини поступово додати кілька краплин 1 %-го розчину жовтої кров'яної солі. Відбувається реакція: $4\text{FeCl}_3 + 3\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \rightarrow \text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 + 12\text{KCl}$. Наявність заліза визначають за утворенням берлінської лазури яскраво-синього забарвлення. Препарувальною голкою з'єднати обидві краплини дугоподібним каналом.

Примітка. Препарат можна злегка підсушити над полум'ям спиртівки. Однак слід пам'ятати, що тільки за повільної кристалізації утворюються великі, правильно сформовані кристали. Необхідно також уникати повного перемішування краплин, тому що відбудеться швидка кристалізація – випадуть дуже дрібні кристали, які майже непомітні в полі зору мікроскопу Препарат розглянути під мікроскопом без накривного скельця (об'єктив x8, x10, окуляр x15).

4.5. Антагонізм іонів.

Матеріали та обладнання: 0,1М і 0,5М розчин NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂, два стакана на 100 мл, два циліндри на 20 мл, пробірки, штативи, вата, мило, етикетки, проросле насіння пшениці.

При вирощуванні рослин на розчинах, які містять тільки чисту сіль навіть слабкої концентрації, спостерігається пригнічення росту кореневої системи і надземних органів. Токсична дія чистих солей зменшується при додаванні до сольового розчину іонів інших солей.

Антагонізм іонів – це така взаємодія іонів при їх надходженні до кореня рослини, коли присутність одного іону зменшує поглинання іншого. Розчини, де антагонізм іонів виражений у найбільшому ступені, називають урівноваженим. Антагонізм іонів зумовлений пониженою коагулюючою дією їх суміші, у той же час як коагулююча дія окремих іонів значно вища. Крім того, доза поглинутих окремих іонів рослиною із суміші мінерального живильного розчину зменшується.

Мета роботи: визначення взаємодії іонів при поглинанні їх рослиною.

Хід роботи: Приготувати окремі розчини хлоридів натрію, калію, кальцію і магнію у двох концентраціях (0,1М і 0,5М), а також суміші 0,1М і 0,5М солей. Налити у дві пробірки чистий розчин або суміш солей згідно зі схемою досліду (табл.4.). Суміш приготувати в окремих стаканах, доливаючи циліндром по 10 мл розчину кожної з чотирьох солей певної концентрації. На верхню частину пробірок прикріпити етикетки з необхідним реквізитом (факультет, група, прізвище виконавця, розчин солі, концентрація).

Для кожної пробірки взяти по три однакових проростки пшениці, рівномірно розкласти їх на вузькій, завширшки з 1см ватній смузі і звернути в рулон. При цьому надземні органи і корінці кожного проростка повинні виглядати зовні. Змочити водою ватний рулон і вставити у пробірку так, щоб корінці були занурені в розчин. Протягом досліду треба доливати воду у пробірки. За тиждень заміряти довжину органів і корінців кожного проростка. Середній результат записати у табл. 4. і зробити висновки.

**Таблиця 4. Дослідження впливу антагонізму іонів
на ріст проростків пшениці**

Прізвище виконавця	Розчин солей	Концентрація, М	Довжина, мм	
			коренів	пагонів
	NaCl	0,1		
	KCl	0,1		
	CaCl ₂	0,1		
	MgCl ₂	0,1		
	Суміш солей	0,1		
	NaCl	0,5		
	KCl	0,5		
	CaCl ₂	0,5		
	MgCl ₂	0,5		
	Суміш солей	0,5		
	Вода			

Висновки: _____

Контрольні запитання

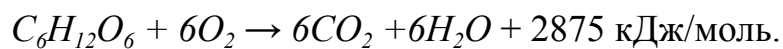
1. Поняття – живлення рослин (повітряне, кореневе).
2. Основні закономірності поглинання речовин. Активне та пасивне поглинання речовин.
3. Дифузія та адсорбція у поглинанні та транспорті іонів. Роль клітинної оболонки у процесах адсорбції мінеральних речовин.
4. Види мембранного транспорту. Електрохімічний потенціал іона. Пасивний та активний мембранний транспорт іонів: проста та полегшена дифузія. Іонні канали – будова, принцип роботи зворотного механізму, види (K⁺, Ca²⁺, аніонні, механочутливі та ін.). Транспортні АТФ - ази: види та функції.
5. Транспорт елементів мінерального живлення (внутрішньоклітинний, ближній і дальній). Механізми, спрямованість, регуляція.
6. Вміст мінеральних елементів у рослині (макро-, мікро- та ультрамікроелементи).
7. Фізіологічна роль азоту. Азотфіксація: симбіотична, асоціативна, вільноживучими мікроорганізмами. Поглинання та засвоєння нітратів. Поглинання та засвоєння амонійного азоту.
8. Фізіологічна роль макроелементів: фосфору, сірки, калію, заліза, магнію.
9. Фізіологічна роль кальцію. Кальцій – універсальний вторинний месенджер.
10. Фізіологічна роль мікроелементів – бору, молібдену, міді, марганцю, кобальту та інших.

ТЕМА 5 ДИХАННЯ

Дихання рослин – сукупність процесів, які здійснюють окиснення органічних речовин і отримання енергії для життєдіяльності.

Дихання є одним з основних проявів обміну речовин та енергії між рослинним організмом і навколишнім середовищем, у результаті чого відбувається утворення енергії у вигляді АТФ та формування проміжних продуктів для різноманітних реакцій синтезу. Субстратом для окиснення у рослин служать здебільшого вуглеводи, але в окремих органах і тканинах можуть використовуватися жири та білки (наприклад, у насініні для проростання). На дихання рослини витрачають 20-25 % органічної речовини, утвореної під час фотосинтезу.

Загальне рівняння дихання, якщо вихідним субстратом є вуглеводи, таке:



Якщо вихідним субстратом для дихання є білки або жири, то енергетичний ефект буде іншим. Вважається, що під час спалювання 1 г вуглеводів у середньому виділяється 17 кДж енергії, 1 г білків – 17 кДж, а жирів – 39 кДж. З наведеного сумарного рівняння слідує, що об'єми газів у разі окиснення вуглеводів однакові. Відношення об'ємів виділеного вуглекислого газу до поглинутого кисню називають дихальним коефіцієнтом (ДК). У разі окиснення вуглеводів ДК рівний одиниці. Коефіцієнт дихання може значно відхилитися від одиниці, якщо субстратом дихання є білки або жири. Зокрема, якщо субстрат багатий на іони водню, тоді частина кисню повітря використовується на окиснення не лише вуглецю, а й надлишкового водню, що є в субстраті. Саме тому коефіцієнт дихання для жирів менший за одиницю. Чим нижча величина дихального коефіцієнта, тим більший тепловий ефект окиснення, і навпаки. Загальним показником швидкості окиснення субстратів дихання є **інтенсивність дихання**. Різні тканини рослин різко відрізняються між собою за інтенсивністю дихання. Інтенсивність дихання є показником життєдіяльності рослин. Функції дихання не обмежуються запасанням енергії у вигляді АТФ. Дихання має важливе значення у процесах терморегуляції органів рослини, утворенні сполук вторинного метаболізму, знешкодженні шкідливих речовин. Різноманітність типів обміну речовин у рослин різних систематичних груп, віку, фізіологічного стану та за різних умов довкілля зумовлена специфічними особливостями реакцій процесу дихання.

У рослин розрізняють **зовнішнє та внутрішнє дихання**.

■ **зовнішнє дихання (газообмін)** – сукупність процесів, які забезпечують обмін газів між організмом рослини і середовищем;

■ **внутрішнє (внутрішньоклітинне) дихання** – сукупність біохімічних процесів розщеплення за участю клітинних ферментів, які супроводжуються виділенням енергії.

У рослинних клітинах спостерігається **аеробне дихання**, однак для них властиве й **анаеробне**:

■ **аеробне дихання** – сукупність процесів, що здійснюють окиснення

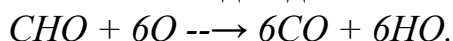
органічних речовин і отримання енергії за участю кисню, який є приймачем (акцептором) електронів; розщеплення органічних речовин є повним і відбувається з утворенням кінцевих продуктів окиснення H_2O і CO_2 ; характерне для переважної більшості рослинних організмів і проходить в мітохондріях клітини;

■ **анаеробне дихання** – сукупність процесів, які здійснюють окиснення органічних речовин і отримання енергії за відсутності кисню; розщеплення органічних речовин є неповним і відбувається з утворенням проміжних сполук; характерне для багатьох рослинних тканин і може відбуватися навіть за доступу повітря (наприклад, у достигаючих плодів можна виявити запах етилового спирту, що виділяється внаслідок анаеробного дихання).

У нижчих рослин обмін газів здійснюється шляхом дифузії через поверхню клітин. У вищих рослин для дихання є спеціальні пристосування: продихи на листках і зелених стеблах, сочевички у корі дерев'янистих форм, численні міжклітинники у губчастій паренхімі листків. Дихання у рослин відбувається як в темряві, так і на світлі, причому на світлі внаслідок фотосинтезу з повітря поглинається набагато більше вуглекислого газу, ніж виділяється в процесі дихання. На дихання зелені рослини втрачають 20-25% органічних сполук, що утворюються в процесі фотосинтезу. Найінтенсивніші процеси дихання у ростучих тканинах верхівок пагонів і коренів, стебел, бруньок, проростаючого насіння. Основним субстратом дихання у рослин є вуглеводи. Жири та білки використовуються в основному під час дихання паростків рослин, які розвиваються з багатих на жири чи білки насінин. Тривалий час вважали, що процеси фотосинтезу й дихання протилежні. Та насправді вони взаємопов'язані і споріднені, причому в обох процесах важливе значення має вода. Виявлено, що дихання виконує ті ж самі функції, що й фотосинтез, а саме вони забезпечують клітину необхідними для росту й життєдіяльності проміжними продуктами та енергією.

Отже, аеробне й анаеробне дихання разом з повітряним і мінеральним живленням є основою обміну речовин та енергії рослинного організму.

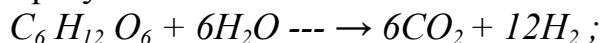
Рослини для дихання використовують вуглеводи, а також інші запасні поживні речовини (субстрати). Показником хімічної природи субстрату є **дихальний коефіцієнт (ДК)**. Дихальний коефіцієнт – це відношення виділеного CO до поглинутого O внаслідок дихання.



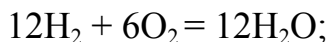
5.1. Визначення дихального коефіцієнта у різних рослин (лабораторна робота)

Рослини для дихання використовують вуглеводи, а також інші запасні поживні речовини (субстрати). Показником хімічної природи субстрату є дихальний коефіцієнт (ДК). **Дихальний коефіцієнт** – це відношення виділеного CO_2 до поглинутого O_2 внаслідок дихання. Загальне рівняння дихання при використанні вуглеводів як субстрату, має такий вигляд:

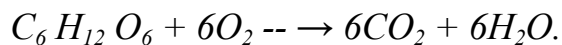
для розщеплення субстрату



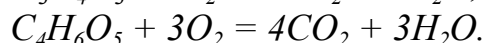
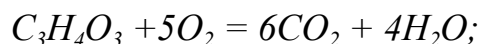
для окиснення водню



сумарне рівняння



З наведеного сумарного рівняння випливає, що об'єми газів у разі окиснення вуглеводів однакові. Тому коефіцієнт дихання для вуглеводів дорівнює одиниці. Якщо матеріалом дихання є більш окиснені речовини, ніж вуглеводи (наприклад, $C_3H_4O_3$ – пірвіноградна чи $C_4H_6O_5$ – яблунева кислоти), то коефіцієнт дихання буде більшим за одиницю, а саме - 1,20 або 1,33 відповідно:



І навпаки, якщо для повного окиснення дихального субстрату використовуються менш окиснені речовини, ніж вуглеводи (наприклад, білки, ліпіди), то потреба в кисні буде більшою, а отже, і ДК буде меншим одиниці.

Наприклад, якщо поживним субстратом є стеаринова кислота, то сумарне рівняння дихання буде $C_{18}H_{36}O_2 + 26O_2 = 18CO_2 + 18H_2O$, а дихальний коефіцієнт дорівнюватиме 0,69. Зростання величини дихального коефіцієнта спостерігається завжди, коли дихання пов'язане з бродінням, бо тоді сам процес бродіння супроводжується виділенням CO_2 без поглинання кисню з повітря. Отже, чим нижчий дихальний коефіцієнт, тим більший тепловий ефект окиснення, і навпаки. Саме тому білки та жири характеризуються високим тепловим еквівалентом, а органічні кислоти – дуже низьким. Принцип даного методу полягає у тому, що для визначення ДК досліджуваний матеріал переносять у пробірку, з'єднану з градуйованою трубкою, у яку введено краплину забарвленої рідини. Якщо об'єм O_2 , що поглинається, і об'єм CO_2 , що виділяється, буде однаковим, то краплина рідини в трубці не рухатиметься. Якщо ж величина ДК менша або більша за одиницю, то можна спостерігати різницю між об'ємами поглинутого O_2 і виділеного CO_2 . Потім в цю саму пробірку з рослинним матеріалом вносять сильний розчин лугу, який поглинатиме CO_2 , що виділяється під час дихання. Рух краплини в цьому разі відповідатиме кількості O_2 , поглинутого рослинним матеріалом.

Мета роботи: Визначити дихальний коефіцієнт у різних видів рослин.

Матеріали, реактиви, обладнання.: Проросле насіння пшениці, соняшника та інших рослин; 20 %-й розчин КОН, вода, підфарбована метиленовим синім; пробірка з корком, в який вставлено вигнуту під прямим кутом градуйовану трубку, конічна колба місткістю 250 мл, пінцет, піпетка з відтягнутим кінцем, смужка розміром фільтрувального паперу 2-6 см. Хід роботи.

1. У пробірку (приблизно до половини її об'єму) насипати насіння, що наклюнулось.

2. Щільно закрити пробірку корком, в який вставлено вигнуту під прямим кутом градуйовану трубку.

3. Піпеткою з відтягнутим кінцем ввести у трубку краплину підфарбованої метиленовим синім води, створивши таким чином всередині приладу замкнений атмосферний простір. Примітка. Прилад під час досліду слід обов'язково тримати за постійної температури. Для цього трубку ставлять в штатив або колбу, запобігаючи їй нагріванню руками або диханням.

4. Коли краплина відірветься від краю трубки, відмітити положення внутрішнього меніску і записати час початку досліду.

5. Після 5-хвилинної експозиції записати відстань, пройдену краплиною за 5 хв.

6. Повторити вимірювання тричі.

7. Після цього визначити середню відстань, пройдену краплиною за 5 хв. (А), що відповідає різниці об'ємів поглинутого кисню і виділеної вуглекислоти:

$$A = O_2 - CO_2.$$

8. Вийняти корок з пробірки, де було насіння і провітрити пробірку.

9. Вкласти пінцетом згорнуту в кільце смужку фільтрувального паперу, змоченого 20 %-м розчином лугу, у верхню частину пробірки.

10. Закрити пробірку корком і знову ввести у трубку краплину підфарбованої води.

11. Відмітити положення меніска краплини і визначити рух краплини за два 5-хвилинних інтервали.

12. Врахувати їхню середню величину (В), що відповідає об'єму поглинутого під час дихання кисню.

13. Якщо позначити об'єм поглинутого кисню через O_2 , а виділеної вуглекислоти – через CO_2 , то, знаючи величини А і В, легко знайти ДК:

$$A = O_2 - CO_2; B = O_2; CO_2 = B - A,$$

звідси:

$$DK = B-A/B.$$

Результати записати у таблицю 5.

Таблиця 5. Визначення дихального коефіцієнту у різних видів рослин

Культура	Відстань пройдена краплиною за 5 хв, мм								ДК=В-А/В CO ₂ /O ₂	
	Без лугу (А)				З лугом(В)					
	1	2	3	середнє	1	2	3	Середнє		

Зробити висновки про залежність величин дихального коефіцієнта від виду окиснювальних речовин.

Висновки: _____

ТЕМА 6. ВОДНИЙ ОБМІН



Вміст води в рослинних тканинах - дуже мінлива та динамічна величина. Вона залежить від віку рослин, пори року, доступності вологи, інтенсивності транспірації тощо.

Форми води в клітині

У клітинах розрізняють дві форми води – *вільну* й *зв'язану*. Зв'язана вода поділяється на:

- 1) **зв'язану осмотично** (гідратує розчинені речовини);
- 2) **колоїдно зв'язану** (інтер- та інтраміцелярна вода);
- 3) **капілярно зв'язану** (в клітинних стінках та судинах).

Проникність плазмалеми клітин коренів для води досить висока. В молодих коренях до 3/4 всієї внутрішньоклітинної води міститься у вакуолях, 1/4 частина - в оболонках і лише 1/20 - у цитоплазмі.

Вода утримується в клітинах за рахунок *осмосу* й набухання *біоколоїдів*. Навіть при наявності вологи, меншої від критичного рівня, велика кількість води залишається у зв'язаному стані.

Клітинні стінки мають велику гігроскопічність і утримують воду в основному за рахунок високої гідрофільності пектинових та целюлозних компонентів. Вони містять 2 фракції:

- малорухому (в мікрокапілярах та зв'язану з мікрофібрилами);
- і рухому (в крупнокапілярних просторах).

Вміст води у клітинних стінках становить 50 % від їх маси. Рух води зовні провідної системи відбувається в основному по апопласту.

У *цитоплазмі* вміст води сягає 95% її маси. Головний вид гідрофільних колоїдів у цитоплазмі — це білки. В гідрофобних ділянках вода має структуру, близьку до структури льоду. В органідах клітини звичайно міститься близько 50% води (пластиди, мітохондрії). *Вакуольний сік* переважно містить 98 % води, а також цукри, солі, іони, органічні кислоти, ферменти, пігменти, слиз і т. д. Вакуольний сік можна розглядати як розчин, що утримує воду осмотично через вибіркву проникність тонопласта.

Поглинання води із зовнішнього середовища - обов'язкова умова існування будь-якого живого організму. Вона може надходити до клітин рослин за рахунок набухання біоколоїдів (проростання насіння) або за рахунок осмотичного поглинання.

Осмосом називають проходження розчинника в розчин, відділений від нього напівпроникною мембраною (яка пропускає лише розчинник).

Наземні рослини здатні створювати безперервний висхідний потік води. Він підтримується низкою механізмів, що забезпечують водообмін рослин. Водний обмін у рослин складається з трьох етапів:

- 1) поглинання води коренями;
- 2) пересування її по судинах;
- 3) транспірація (випаровування води листками).

У корені одночасно можуть функціонувати два насоси: сукупність іонних pomp плазмалем корневих волосків та сукупність іонних pomp плазмалем паренхімних клітин ксилеми.

Таким чином, у результаті активної роботи іонних насосів у корені та осмотичного надходження води до судин ксилеми в них утворюється гідростатичний тиск, названий корневим тиском. Він забезпечує підняття ксилемного розчину по судинах із кореня до надземних частин. Увесь цей механізм називають **нижнім кінцевим двигуном**. Для його діяльності необхідна енергія. Джерелом енергії служать продукти фотосинтезу (вуглеводи). За рахунок їхнього окиснення в процесі дихання утворюється АТФ. Енергія АТФ витрачається на створення певної концентрації осмотично активних речовин, яка повинна бути вищою від концентрації осмотично активних речовин ґрунтового розчину і зростати від клітин корневих волосків до судин ксилеми.

Плач рослин. Гутація. Приклад діяльності нижнього кінцевого двигуна - плач рослин. На початку весни можна спостерігати інтенсивний тік рідини знизу вгору через пошкодження стовбурів чи гілок. У цей період корневий тиск в основі стовбура може сягати 10 атм. При видаленні стовбура спостерігають тривале виділення ксилемного соку (пасоки). Приладнавши на пеньок манометр, можна виміряти корневий тиск.

Іншим прикладом роботи нижнього кінцевого двигуна є гутація. В результаті його діяльності пасока нагнітається в пагони і при високій вологості повітря на кінцях листків виділяються краплини вологи. Особливо це явище характерно для тропічних рослин.

Транспірація та верхній кінцевий двигун

Транспірація - це фізіологічний процес випаровування води рослинами. Головний орган транспірації - листок. Транспірація буває кутикулярна (крізь кутикулу), продихова (крізь продихи) і лентікулярна (крізь сочевички).

Рослини мають велику листову поверхню. Вона полегшує поглинання CO_2 , вловлювання світла і випаровування. Вода випаровується через поверхню листків і через продихи. В результаті втрати води клітинами в них знижується водний потенціал, тобто зростає сисна сила. Це призводить до посилення поглинання клітинами листка води із ксилемних жилок і руху води по ксилемі з коренів до листків.

Так утворюється **верхній кінцевий двигун (ВКД)**. Сила ВКД тим більша, чим активніша транспірація і, таким чином, більша сисна сила клітин паренхіми. Це забезпечує рух води вгору по рослині. ВКД може працювати при повному вилученні НКД. Для його роботи використовується не метаболічна енергія, а енергія зовнішнього середовища - температура й рух повітря.

Транспірація складається з 2-х процесів:

- 1) руху води по жилках до клітинних стінок мезофілу;
- 2) випаровування води в міжклітинні простори з подальшою дифузією через продихи або випаровування води із клітинних стінок в атмосферу шляхом кутикулярної транспірації. Вода рухається до поверхонь випаровування по клітинних стінках з меншою протидією, ніж по симпласту. Молекули води залишають рослину, переміщуючись (як і всередині рослини) у напрямку більш низького водного потенціалу (який тим нижчий, чим менша відносна вологість).

Транспірація зумовлює пересування по рослині величезної кількості води і має пристосувальне значення, що тісно пов'язане не лише з водообміном, а й з іншими метаболічними процесами, зокрема фотосинтезом, диханням, мінеральним живленням. Тому в разі дослідження водного режиму різних рослин надзвичайно важливе значення має вивчення таких величин транспірації, як її інтенсивність, продуктивність тощо.

Інтенсивність транспірації - це величина, що показує, яку кількість води у грамах випаровує рослина за одну годину на одиницю S (удень - 15-250 г/м за год.; вночі - 1-20 г/м за год.).

Продуктивність транспірації - це величина, що визначає кількість грамів сухої речовини, яка утворюється при втраті 1000 г води (\approx 1-8 г на 1000 г води).

Транспіраційний коефіцієнт - це кількість грамів води, яка витрачається на утворення одного грама сухої речовини (\approx 120-150 г на 1 г сухої речовини).

Звідси можна зробити висновок, що на синтез витрачається лише 0,2 % H_2O ; решта - на транспірацію.

Значення висхідного потоку для рослин

1. Висхідний потік від кореневої системи до надземних частин служить засобом транспортування і нагромадження в надземних органах мінеральних речовин і хімічних сполук кореня.

2. Висхідний потік залежить від транспірації, а транспірація пов'язана із засвоєнням діоксиду вуглецю, що використовується у фотосинтезі. Щоб отримати CO_2 , рослина мусить віддавати воду, а зменшення втрат H_2O

(закривання продохів) зменшує і притік CO₂. У сільському й лісовому господарствах для отримання максимальних врожаїв важливо знати співвідношення між продукцією фотосинтезу і втратами води у рослині з метою їх регулювання.

3. Висхідний потік необхідний для нормального водопостачання всіх клітин і підтримання тургору. При нестачі води у клітинах відбуваються різноманітні порушення. Тому для отримання високих врожаїв у посушливих районах необхідно розвивати зрошувальне землеробство.

4. Транспірація є способом захисту рослин від перегріву.

Пристосування рослин до різних умов водопостачання позначилося на їхніх морфологічних, анатомо-фізіологічних і біохімічних особливостях. Залежно від екологічної ніші, яку вони займають, слід виділити насамперед водні рослини (гідратофіти) та наземні.

1. **Рослини, які живуть у воді**, регулюють постійність складу внутрішнього середовища за допомогою механізмів захисту від надлишкового постійного надходження води, яку вони поглинають усією поверхнею.

2. **У наземних рослин** механізми регуляції водного балансу спрямовані на захист від значних втрат води. Вони різні у рослин різних екологічних груп. За здатністю пристосовувати водний обмін до коливань водопостачання розрізняють дві групи рослин

3. **Пойкілогідричні організми** (бактерії, синьо-зелені водорості, зелені водорості порядку Protococcales, гриби, лишайники, злаки сухих степів, пилкові зерна та насіння покритонасінних) пристосувалися переносити значну нестачу води без втрати життєздатності. При цьому у них знижується інтенсивність обміну речовин. За характером змін усіх показників водного режиму (осмотичний тиск, інтенсивність транспірації, вміст води) протягом доби їх зараховують до гідролабільних рослин.

4. **Гомойогідричні рослини** (наземні папоротеподібні, голонасінні, квіткові) мають тонкі механізми регуляції продигової та кутикулярної транспірації, а також діяльності кореневої системи. В їхніх клітинах розвинена вакуольна система, і вони не здатні до зворотного висихання. Показники водного режиму характеризують гідростабільний тип. Ці рослини діляться на 3 екологічні групи.

5. **Гігрофіти** - тонколисті папороті, деякі фіалки, калюжниця та інші - рослини високої вологи і/або затінення. Для них характерно: відкриті продохи, гідатооди для видалення води, погано переносять будь-яку засуху.

6. **Мезофіти** - листові дерева, лісові та лугові трави, більшість культурних рослин і т. д. - займають проміжне місце між 5-ою і 7-ою групами.

7. **Ксерофіти** - молочаї, алое, кактуси, полин, ковила та інші - переважають у місцевостях із сухим жарким кліматом, добре пристосовані до засухи.

6.1. Визначення стану продохів методом інфільтрації (за Г. Молішем) (лабораторна робота)

Міжклітинники листа зазвичай заповнені повітрям, завдяки чому при розгляданні на світло лист здається матовим. Якщо станеться інфільтрація, тобто заповнення міжклітинників якою-небудь рідиною, то відповідні ділянки листа стають прозорими. Визначення стану продихів стінки, проникати через відкриті продихові щілини в найближчі міжклітинники, витісняючи з них повітря. В результаті відповідні ділянки стають прозорими. У міжклітинники відносно легко проникає ксилол, важче - бензол і ще важче - спирт. Це пов'язано з тим, що ці рідини мають різну в'язкість, різний розмір молекул. Ступінь розкриття продихів може служити фізіологічним показником для визначення забезпеченості рослин водою і встановлення строків поливу.

Мета роботи: встановити ступінь розкриття продихів в залежності від інфільтрації різних органічних розчинників. Об'єкт дослідження: листя герані (*Pelargonium zonale*).

Хід роботи

На нижні сторони листів рослин, які ростуть при різній водозабезпеченості, наносять послідовно спирт, бензол і ксилол в окремі місця. Листя витримують в горизонтальному положенні до повного зникнення крапель, які можуть або випаруватися, або проникнути всередину листа. Потім розглянути його в світлі, що проходить. Поява на аркуші прозорих плям вказує на проникнення даної рідини в міжклітинники. **Оформлення роботи:** Результати записати в таблицю 6, відзначаючи проникнення рідини знаком «+», а відсутність проникнення знаком «-», зробити висновок.

Таблиця 6. Ступінь розкриття продихів листків рослин

Рослини	Інфільтрація розчинника з певного боку листа					
	Абсолютний спирт		Бензол		Ксилол	
	низ	верх	низ	верх	низ	верх

Матеріали та обладнання: листя рослин, крапельниця, спирт, бензол, ксилол.

Вплив концентрації розчину на проростання насіння.

Одним з факторів, що впливають на надходження води в рослину, є концентрація солей в ґрунті, точніше різниця між осмотичним тиском клітинного соку і ґрунтового розчину. Осмотичний тиск клітинного соку у молодих проростків не перевищує 10 атм. Мета роботи: вивчити вплив різної концентрації іонів на проростання насіння. Об'єкт досліджень: насіння пшениці (*Triticum durum*), гороху (*Pisum sativum*) і ячменю (*Hordeum vulgare*).

Матеріали та обладнання: насіння пшениці, 1М розчин хлористого натрію, пінцет, чашки Петрі, пісок, папір, міліметровий папір.

Хід роботи

Насипати в 4 чашки Петрі по 50 г піску і змочити його 10 мл 1 М; 0,1 М; 0,01 М розчину хлористого натрію, а в останню чашку 10 мл води. Відібрати по 50 штук здорового насіння і розкласти рівномірно по поверхні піску, накрити кришками і поставити в тепле місце. Через 7 днів у кожній чашці підрахувати кількість пророслого насіння, виміряти у 10 проростків довжину надземних частин і корінця (при наявності декількох корінців брати найдовший і знайти середнє арифметичне). Обчислити осмотичний тиск кожного розчину.

Оформлення роботи. Результати досліджень записати в зошит. Зробити висновок про причини різного проростання насіння в розчинах різної концентрації.

6.2. Визначення інтенсивності транспірації та відносної транспірації ваговим методом (лабораторна робота)

Транспірація (випаровування води рослинами) вимірюється кількістю випаруваної води одиницею листової поверхні за одиницю часу. Величина транспірації залежить від багатьох факторів (температури, освітлення, водопостачання тощо), а також змінюється впродовж доби в межах 10-300 г·м²год. Одним із методів визначення інтенсивності транспірації є ваговий, який базується на обліку кількості випаруваної води. Цим методом можна визначити транспірацію цілої рослини або її частини. Відносна транспірація – відношення інтенсивності транспірації до інтенсивності випаровування з вільної водної поверхні за тих самих умов. Цей показник характеризує здатність рослин регулювати транспірацію і становить 0,1-0,5, піднімаючись до 1, а у добре захищених від втрати води рослин дорівнює 0,01 і менше.

Мета роботи. Визначити інтенсивність транспірації та відносну транспірацію залежно від впливу деяких факторів (температури, вітру тощо).

Матеріали, реактиви, обладнання. Дослідні рослини; олія; технічні ваги з наважками, чашки Петрі, звичайний і міліметровий папір, лінійки, вентилятор, ножиці.

Хід роботи

1. В пробірку налити воду, в яку занурити черешок листка (гілку). Попередньо зрізи поновити з метою видалення з трахей і трахеїд повітря.

2. На поверхню води в пробірці нанести 1-2 краплини рослинної олії і ретельно зважити її з точністю до третього знаку. За одну годину повторно зважити і визначити кількість випаруваної води.

3. Отримати величину інтенсивності транспірації, поділивши кількість випаруваної води в грамах на площу поверхні листової пластинки (см²).

4. Визначити площу поверхні листка. Для цього вирізати з паперу квадрат площею 100 см² (10x10 см) і зважити. Папір повинен бути рівномірним за щільністю. На цей квадрат накласти листок, який був у досліді, і гострим олівцем обвести контур його. Вирізати контур листка, встановити масу його і вирахувати площу за пропорцією. Поверхню листка ще простіше визначити після нанесення його контуру на міліметровий папір.

5. Обчислити інтенсивність транспірації T (в г м²·год) за формулою: де C – кількість випаруваної листком води за 1 год, г; t - тривалість досліду, год; S – площа листка, см².

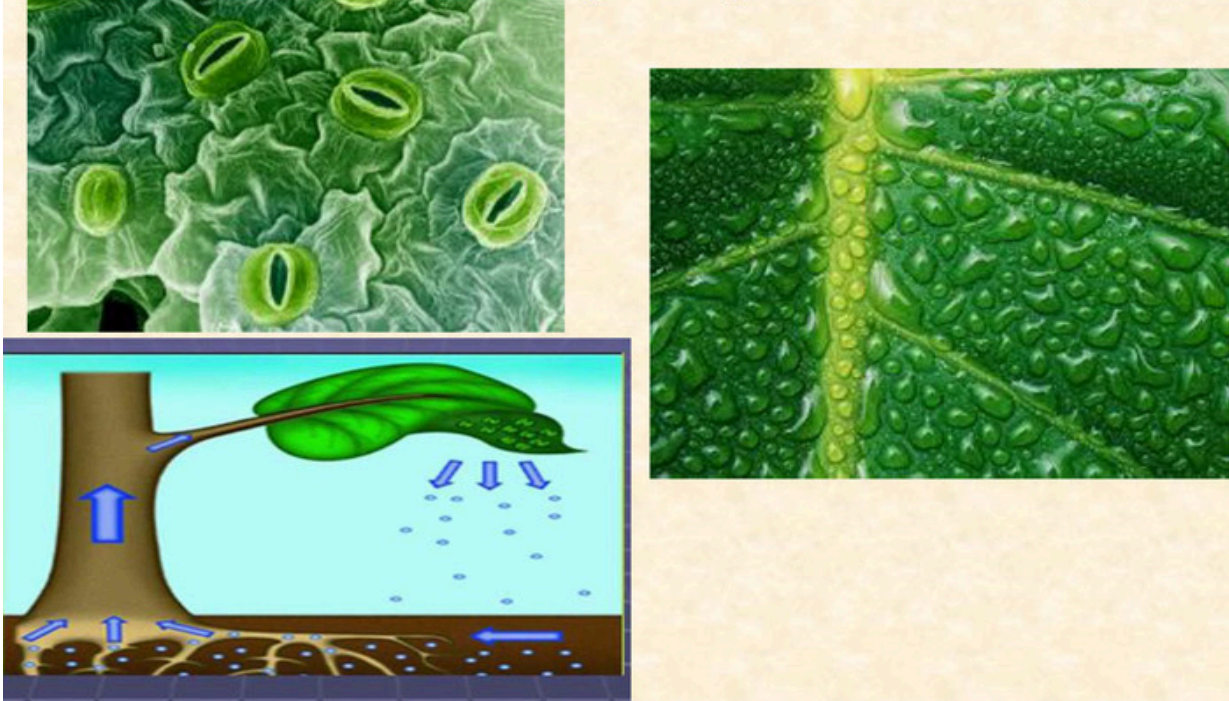
6. Паралельно, за тих самих умов, визначити інтенсивність випаровування води з вільної водної поверхні (E). Для цього встановити кількість випаруваної води за 1 год з поверхні чашки Петрі. Площу поверхні чашки Петрі підрахувати за формулою: $S = \pi r^2$.

7. Розрахувати E за раніше наведеною формулою інтенсивності

транспірації і обчислити величину **відносної транспірації (ВТ):** $ВТ = Т/Е$.

Примітка. У досліді вивчити, як умови (освітленість, швидкість вітру та ін.) впливають на інтенсивність транспірації.

8. Порівняти різні види рослин і зробити висновки про здатність їх регулювати транспірацію.



Інтенсивність транспірації (I_t) обчислити за формулою:

$$I_t = m/S*t,$$

де, m – кількість випаруваної води, мг; S – площа листкової пластинки, $дм^2$; t – час експозиції, год. (60);

Контрольні запитання

1. Значення води в житті рослини.
2. Вміст та форми води у рослині.
3. Загальна характеристика водного обміну рослин.
4. Водний баланс, водний дефіцит, оводненість, інші характеристики водного режиму.
5. Роль кореневої системи в поглинанні води рослиною. Нижній кінцевий двигун води – кореневий тиск, плач рослин, гутація.
6. Вплив зовнішніх та внутрішніх факторів на надходження води в корінь. Верхній кінцевий двигун води – транспірація: види та фізіологічне значення.
7. Показники, що характеризують транспірацію – інтенсивність, продуктивність, транспіраційний коефіцієнт, відносна транспірація
8. Якими методами вона вимірюється інтенсивність транспірації?
9. Пристосування рослин до різних умов водопостачання

ТЕМА 7. РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН

Ріст – це незворотне збільшення розмірів і маси клітин, тканин і органів рослин, пов'язане з новоутворенням елементів їхньої структури. Розвиток – це якісні зміни в структурі та життєдіяльності рослин в онтогенезі. З наведених означень зрозуміло, що ріст і розвиток належать до інтегральних процесів, вивчення яких потребує багатогранного підходу, їх слід досліджувати на різних рівнях організації – субклітинному (молекулярному, надмолекулярних комплексів, окремих органел), тканинному, органному та рівні організму. Це можливо у разі застосування сучасних методів молекулярної біології, біохімії, цитології, гістології, імунології, біофізики, фізіології та ін. Лише всебічний аналіз процесів дає можливість проникнути в глибинні механізми росту та розвитку і відкриває можливості регуляції життєдіяльності рослин. Ріст і розвиток детермінуються генетично та реалізуються під впливом багатоваріантних умов довкілля, фактори якого моделюють експресію геному. Серед них велике значення мають метеорологічні фактори, трофічна, електрофізіологічна і фітогормональна регуляції. Ріст пов'язаний з локально розташованими твірними тканинами, тому частина лабораторних робіт розділу знайомить студентів із зонами росту рослин і цитологічними особливостями їхніх клітин. Звернуто увагу на початковий етап онтогенезу рослин – проростання насіння і методи визначення його життєздатності, явище апікального домінування, гео і фототропічні реакції. Низка завдань присвячена вивченню ролі фітогормонів і вегетативному розмноженню рослин. Ці досліді потребують значного інтервалу часу, їх доцільно проводити під час літньої виробничої практики

7.1. Перетворення речовин під час проростання насіння

Насіння рослин містить різноманітні запасні поживні речовини – білки, жири, вуглеводи. Насіння, в якому основною запасною речовиною є крохмаль, називають крохмальним (наприклад, насіння пшениці, жита, ячменю), а те, в якому жири переважають над вуглеводами – олійним (наприклад, насіння рицини, соняшника, ріпаку). Під час проростання насіння складні запасні речовини за участю ферментів перетворюються у простіші, які використовуються в процесі росту й розвитку паростка. Усі моносахариди, а також дисахариди завдяки наявності альдегідної або кето-групи є редукуючими, тобто мають відновлювальні властивості. Сахароза – нередукуючий цукор. Характерною реакцією на редукуючі цукри є відновлення рідини Фелінга.

Мета роботи. Встановити перетворення, яких зазнають запасні поживні речовини під час проростання насіння. Порівняти хімічний склад непророслого та пророслого насіння.

Матеріали, реактиви, обладнання. Сухе і проросле насіння пшениці та соняшнику, рідина Фелінга, розчин І у КІ, розчин судану, водяна баня, фарфорові ступки, скальпелі, мікроскоп, предметні стекла, накривні скельця, препарувальні голки, фільтрувальний папір.

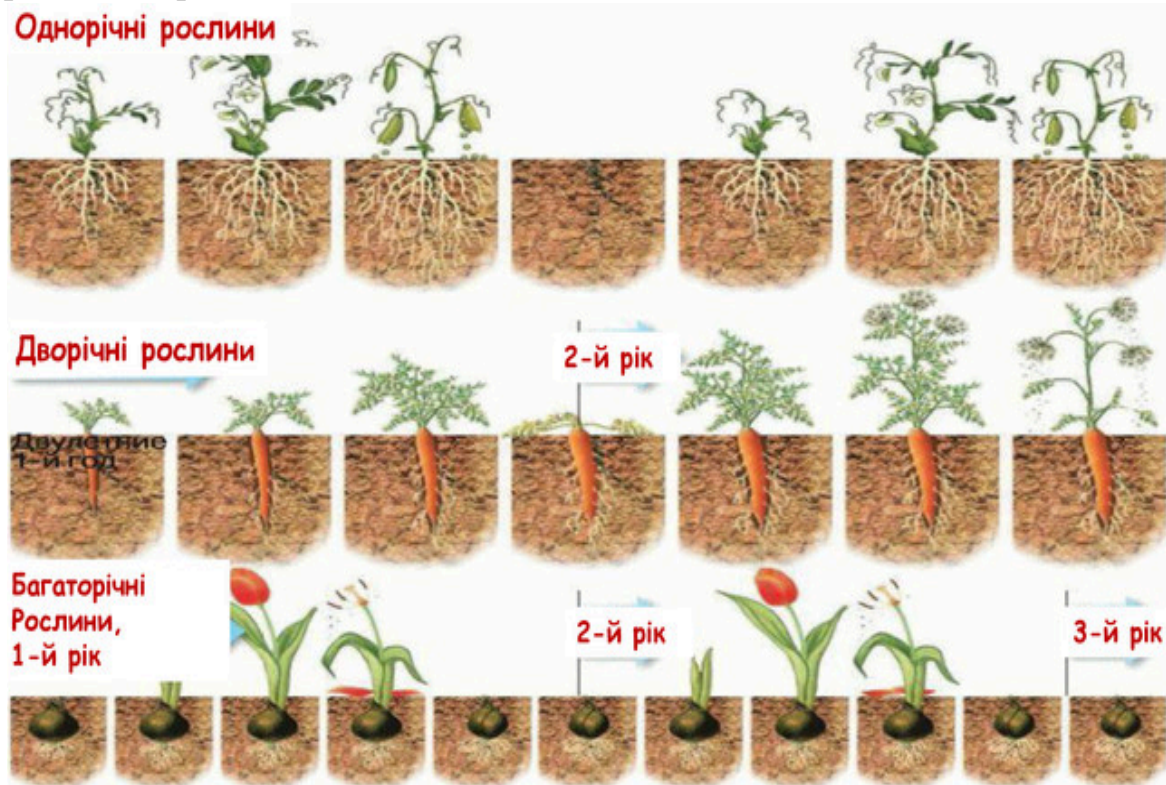
Хід роботи

Розтирають у чотирьох ступках по 10 непророслих і пророслих насінин пшениці та соняшнику. Розтерту масу переносять у чотири підписані пробірки, доливають воду до половини об'єму пробірки і ставлять на 15 хв. на киплячу водяну баню для екстракції розчинних речовин. Зливають витяжки у чисті підписані пробірки, доливають рівний об'єм рідини Фелінга та витримують 5 хв на киплячій водяній бані. За кількістю Cu_2O , що утворився, оцінюють вміст редуруючих цукрів. До залишку матеріалу у пробірках першої групи доливають розчин йоду і за інтенсивністю посиніння оцінюють вміст крохмалю. Роблять тонкі зрізи пророслого і непророслого насіння соняшнику, поміщають їх на предметні стекла в краплі розчину фарби судан III і накривають накривними скельцями. За 5 хв. зрізи промивають водою, розглядають у мікроскоп та оцінюють вміст жиру за кількістю і розмірами червоних або оранжевих крапель. Результати записують в таблицю 7, оцінюючи вміст крохмалю, цукру та жиру за п'ятибальною шкалою.

Таблиця 7. Перетворення речовин під час проростання насіння

Насіння		Крохмаль	Редуруючі жири	Жири
Крохмальне	сухе			
	проросле			
Олійне	сухе			
	проросле			

Роблять висновки про перетворення вуглеводів і жирів під час проростання крохмального та олійного насіння.



Особливості розвитку різних рослин

ТЕМА 8. СТІЙКІСТЬ РОСЛИН ДО НЕСПРИЯТЛИВИХ УМОВ ЗОВНІШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА.

Поняття стрес перенесено в фізіологію рослин і існує напрямок - стрес-фізіологія рослин. Спостережуваний при стресі комплекс метаболічних перебудов у рослин названий фітостресом (Генкель, 1982). У фітофізіології термін «стрес» використовується в двох різних аспектах. Здатність до захисту від дії несприятливих чинників середовища - обов'язкова властивість будь-якого живого організму, включаючи вищі рослини. Ця функція з'явилася одночасно з виникненням перших живих організмів і в ході подальшої еволюції розвивалася і вдосконалювалася. На кожній стадії розвитку здатність рослин до пристосування до несприятливих умов (низька температура, посуха, засолення ґрунту і т.д.) виражена в різному ступені. Ця здатність рослин пов'язана з глибоким зміною обміну і визначається швидкістю і глибиною його зміни без порушення узгодженості між окремими функціями, завдяки чому не порушується єдність організму і середовища. Це, в кінцевому рахунку, і визначає життєдіяльність організму і його витривалість. Для вищих рослин характерний активний шлях адаптації до несприятливих факторів середовища, наприклад, до несприятливих умов водного режиму. Завдяки цілому комплексу гідрорегулюючих пристосувань, що проявляються на будь-якій стадії онтогенезу і відрізняються автоматизмом і динамічністю дії, рослини здатні протистояти факторам зовнішнього середовища. До таких пристосувань, завжди спрямованих на посилення поглинання і зниження випаровування води, відносяться посилений ріст кореневої системи, зростання водоутримуючої здатності, закривання продихів і ін. Так само як стійкість до нестачі або надлишку води, низьким і високим температурам, нестачі кисню, засолення і загазованості середовища, іонізуючого випромінювання, інфекцій і ін. Ці несприятливі фактори останнім часом часто називають стресором, а реакцію організму на будь-які відхилення від норми - стресом. Здатність рослини переносити дію несприятливих чинників і давати в таких умовах потомство називається стійкістю або стрестолерантністю. Таким чином, стійкість - це здатність рослин зберігати постійність внутрішнього середовища (гомеостаз) і здійснювати життєвий цикл в умовах дії стресорів.

8.1. Визначення жаростійкості рослин (за Ф.Ф. Мацковим)

Вплив високих температур спричинює пошкодження структури й функції цитоплазматичних мембран, білків, гальмує рух цитоплазми, знижує мітотичний індекс тощо. Для з'ясування специфіки адаптації рослин до дії високих температур доцільними є дослідження їх фотосинтетичного апарату. Наразі за дії високих температур у клітинах мезофілу листка відбувається пошкодження цілісності напівпроникних мембран, внаслідок чого відбувається дифузія речовин по клітині та за її межі. Такий листок, занурений у розчин соляної кислоти, може набувати бурого забарвлення в результаті феофітинізації (окиснення) хлорофілів. За ступенем феофітинізації можна оцінювати жаростійкість рослин.

Мета роботи. Визначити рівень жаростійкості рослин різних видів.
Матеріали, реактиви, обладнання. Зелені листки різних видів рослин (сентполії, традесканції, пеларгонії, пеперомії, бегонії, плюща); 0,2 н. розчин соляної кислоти; водяна баня, термометри, піпетки, чашки Петрі, кристалізатори, чайник з киплячою водою, олівці по склу.

Хід роботи

1. Нагріти водяну баню до 40 °С.
2. Занурити в неї по 5 листків кожного виду рослин і витримати протягом 30 хв., підтримуючи температуру водяної бані.
3. Взяти першу пробу, витягуючи по одному листку кожного виду рослин, і охолодити їх у чашці Петрі з холодною водою.
4. Збільшити температуру водяної бані до 40 °С і через 10 хв. витягнути ще по одному листку і охолодити їх у новій чашці Петрі з холодною водою.
5. Збільшити температуру водяної бані до 45 °С і через 10 хв. витягнути ще по одному листку, охолодити.
6. Аналогічно інкубувати листки за дії 50 °С та 60 °С. Листки охолодити.
7. Воду в чашках Петрі замінити на 0,2 н. розчин HCl і за 20 хв. оцінити ступінь пошкодження листків за величиною бурих плям.
8. Результати досліджень записати в таблицю 8, відмічаючи: відсутність побуріння знаком «←→», незначне побуріння – «+», побуріння понад 50 % площі листка – «++», повне побуріння – «+++».

Таблиця 8. Результати жаростійкості рослин

Рослини	Стан рослин після дії t°С					
	30	40	45	50	55	60

8.2. Визначення водного дефіциту рослин

Матеріали та обладнання: Рослини (ксерофіти, мезофіти і гігрофіти), торсійні терези, чашки Петрі, фільтрувальний папір, коркові свердла.

Хід роботи

Свердлами зробити десять висічок листків різних рослин. Зважити висічки на торсійних терезах(m) і помістити їх у чашки Петрі з водою. За одну годину воду злити, висічки просушити фільтрувальним папером і знову зважити (m₁). Висушити висічки при +105°С протягом трьох годин і зважити (a). Визначити водний дефіцит рослин за рівнянням:

$$W = m_1 - m / m_1 - a,$$

де W – водний дефіцит, %; a – абсолютна суха маса висічок, мг; m – маса висічок до занурення у воду, мг; m₁ – маса висічок після насичення водою, мг. Результати дослідів записати в таблицю 9.

Таблиця 9. Розрахунок водного дефіциту рослин

Рослин и	Маса висічок листків, мг			Водний дефіцит $W, \%$
	до замочування водою, m	після насичення водою, m_1	абсолютно суха маса висічок, a	

Контрольні запитання:

1. Загальні поняття - стрес, адаптація, стійкість. Фізіологія стресу.
2. Специфіка стресової реакції рослин.
3. Реакції-відповідь рослин на стрес. Механізми, стратегії й види адаптацій рослин.
4. Посухостійкість рослин.
5. Солестійкість рослин.
6. Стійкість рослин до низьких температур – холодостійкість, морозостійкість та зимостійкість.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бобошко О. П., Антоненко С. В. . Методичні рекомендації та лабораторний практикум «Фізіологія рослин» / Автори-укладачі: Бобошко О. П., Антоненко С. В. – Київ, 2019. – 57 с.
2. Гудзь Ю.П., Котелевец О.С., Волинська С.С., Афанасьєва І.Ф. Фізіологія рослин. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з фізіології рослин.- Київ НПУ,1999
3. Злобін Ю. А. Курс фізіології і біохімії рослин / Ю. А. Злобін. – Суми: «Університетська книга», 2004. - 463 с.
4. Машевська А. С., Єрмейчук Т. М., Голуб В.О. М-38 Фізіологія та біохімія рослин: Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт для студентів денної та заочної форми спеціальності «Біологія» біологічного факультету / А. С. Машевська, Т. М. Єрмейчук, В. О. Голуб. – Луцьк : 2014. – 79 с
5. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт і контрольних завдань з дисципліни —Технологія целюлози| для студентів спеціалізації 7.091611. 02 —Хімічна технологія целюлозно-паперового виробництва||/ С.Ф. Примаков, Л. П. Антоненко, В. А. Барбаш, І. М. Дейкун, Р.І. Черьопкіна – К.: КПІ, 2003 - 71 с.
- 6.Методичні рекомендації та лабораторний практикум «Фізіологія рослин» / Автори-укладачі: Бобошко О. П., Антоненко С. В. – Київ, 2019. – 56 с
7. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин / М. М. Мусієнко. - Київ: Фітосоціоцентр, 2001. - 392 с.
8. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин: підручник. Київ : «Либідь», 2005. 808 с.
9. Прості та складні білки: методичний посібник з дисципліни «Біологічна хімія» для викладачів / К. В. Александрова та ін. – Запоріжжя : [ЗДМУ], 2015.- 115 с.
10. Самойленко Т.Г, Самойленко М.О., Рожок О.Ф. Практикум з фізіології рослин.- Миколаїв: МНАУ, 2013.—413с.
11. Фекета І.Ю. Фізіологія рослин. Методичні вказівки з дисципліни фізіологія рослин для студентів спеціальності 6.130400 - лісове господарство – Ужгород: Видавництво УжНУ «Говерла» , 2011. – 56 с.
12. Ферменти : методичний посібник для викладачів / Александрова К.В., Шкода О.С, Крісанова Н.В.та ін. – Запоріжжя : ЗДМУ, 2015. – 115 с.
13. Фізіологія та біохімія рослин: малий практикум: навчально - методичний посібник / Авксентьєва О.О. та ін. ; Харків : ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2018. 151 с.
14. Фізіологія рослин: практикум / О.В. Войцехівська, А.В. Капустян, О.І. Косик та ін. За заг. ред. Т.В. Паршикової – Луцьк: Терен, 2010 -420с.
15. Фізіологія рослин з основами біохімії / Макрушин М.М., Макрушина Є. М., Петерсон Н. В., Цибулько В. С.; під ред. Макрушина М. М. - Київ: Урожай, 1995. - 352 с.

Навчальне видання

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН З ОСНОВАМИ БІОХІМІЇ

Методичні вказівки

до виконання лабораторних робіт

Автор-укладачі: ЛУГОВА Ганна Арнольдівна

Формат 60x84/16. Гарнітура Times New Roman
Папір для цифрового друку. Друк ризографічний.

Ум. друк. арк. _.

Наклад ___ пр.

Державний біотехнологічний університет

61002, м. Харків, вул. Алчевських, 44