МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет агрономії та захисту рослин

Кафедра землеробства та гербології ім. О.М.Можейка

Лугова Г.А., Гавва К.М.

Фізіологія рослин

Робочий зошит

Студента_____групи_____курсу

_____

_____

Викладач:_____

_____

Харків 2024

УДК 581.1(076)

Ф 50

Затверджено

Засіданням Навчально – методичної комісії

факультету агрономії та захисту рослин

Протокол №____15___ від __18 квітня____ 2024р.

Засіданням кафедри землеробства та гербології ім. О.М. Можейка

Протокол №_1__ від __30.01_ 2024 р.

Рецензенти:

Турчинова Н.П., кандидат с/г наук, доцент кафедри генетики, селекції та насінництва Державного біотехнологічного університету ;

Швиденко І.М., кандидат с/г наук, доцент кафедри садово- паркового господарства Державного біотехнологічного університету

Ф 50 Фізіологія рослин: робочий зошит / Г.А. Лугова, К.М. Гавва / за ред. к. б. н., доцента Г.А. Лугової — Харків, 2024 — 59с.

У робочому зошиті наведені лабораторні роботи, що охоплюють основні розділи фізіології рослин (фізіологія рослинної клітини, фотосинтез, дихання рослин, водний режим, мінеральне живлення, ріст та розвиток рослин, фізіологія стійкості(та біохімії рослин (вуглеводи, амінокислоти і білки, ліпіди, ферменти, речовини вторинного походження). Виконання завдань робочого зошиту сприятиме поглибленню знань здобувачів вищої освіти з курсу сприяє самостійній роботі здобувача під час освоєння навчального предмета та надбанню практичних навичок науково-дослідної роботи з фізіології та біохімії рослин. Рекомендовано здобувачам ступеня вищої освіти «Бакалавр» агробіологічного профілю. Для спеціальностей «Лісове господарство» і «Садово–паркове господарство», наведено хід виконання лабораторних робіт з урахуванням необхідного матеріалу саме для цих спеціальностей. «Визначення у трісці вмісту деревини листяних і хвойних порід» та «Фотосинтез хвойних порід».

Зошит призначений для студентів денної форми навчання з агрономічних спеціальностей -201 «Агрономія», та -202 «Захист та карантин рослин» а

також для спеціальностей -205 «Лісове господарство» і 206 «Садово–паркове господарство» першого (бакалаврського) рівня вищої освіти.

УДК 581.1(076)

© Державний біотехнологічний університет, 2024

© Г.А. Лугова, К.М. Гавва 2024

ВСТУП

Вивчення навчальної дисципліни «Фізіологія рослин» спрямоване на засвоєння основних процесів життєдіяльності рослин (водообмін, фотосинтез, дихання, живлення, ріст і розвиток, адаптація і стійкість до несприятливих умов навколишнього середовища) на різних рівнях організації: клітинному, субклітинному, молекулярному, а також встановити взаємозв'язок між різноманітними фізіолого-біохімічними процесами, механізми їх регуляції.

Застосування сучасних методів досліджень дає можливість

фізіології рослин вирішувати такі теоретичні і практичні проблеми:

1. Розробка нових засобів ефективного використання води рослиною. Екологія водного режиму та фізіологія рослин в умовах зрошення.

2. Удосконалення теорії мінерального живлення з метою більш ефективного використання мінеральних добрив та підвищення продуктивності рослин.

3. Вивчення механізмів процесу фотосинтезу та удосконалення методів, що сприяють збільшенню використання рослинами сонячної енергії.

4. Вивчення фізіології формування якості урожаю залежно від екологічних умов вирощування рослин.

5. Вивчення природи стійкості рослин до несприятливих факторів, особливо з урахуванням впливу кліматичних змін і непостійності погодних умов та впливу людського фактору.

Робочій зошит є комплексом, що включає описання лабораторних робіт, виконання яких сприяє більш ефективному засвоєнню і розумінню фізіологічних процесів, а також в цьому оказують додаткову допомогу наведені таблиці, схеми та рисунки .Самостійне обдумування та творча

робота над завданнями , відповідно до поданих рекомендацій та посилань, повинна сприяти формуванню чіткого та правельного розуміння закономірностей, що обумовлюють життєдіяльність рослин.

Загальні вимоги до підготовки і виконання лабораторних робіт з дисципліни «Фізіологія рослин»

1. Робочій зошит є основним робочим документом студента для виконання лабораторних занять з дисципліни «Фізіології рослин».

2. Підготовка та виконання чергового заняття повинна розпочинатись із вивчення лекційного матеріалу і розділів підручника з курсу «Фізіології рослин» або «Біохімія рослин», відповідно до теми заняття. Посилання на літературні дані надаються в кінці зошита.

3. Поряд із теоретичним матеріалом необхідно ретельно пропрацювати ознайомитись з принципом методу, послідовністю проведення роботи і розрахунками.

4. Одержані результати необхідно записувати в таблицю, а розрахунки проводити в робочому зошиті. При закінченні роботи потрібно провести аналіз одержаних даних, сформулювати і записати в кінці належні висновки.

5. При закінченні кожного лабораторного заняття, виконана і оформлена згідно вимог робота, здається викладачу. Якщо з певних причин деякі студенти не встигають провести розрахунки, або оформити лабораторну роботу, для цього виділяються окремі додаткові заняття. Робота, повинна бути виконана повністю та охайно оформлена.

7. Лабораторні заняття, на яких студент був відсутній через хворобу або з інших причин виконуються студентом в позаурочний час, самостійно та при необхідності за допомогою викладача.

8. Поточна успішність студентів із окремих розділів курсу контролюється

написанням контрольних робіт , або відповідями на контрольні запитання , наведені в кінці курсу , або за допомогою усного опитування студентів на лабораторному занятті.

9. Контроль за веденням зошита здійснюється викладачем на кожній лабораторній роботі а також при в кінці семестру при отриманні допуску до іспиту.

10. Без повністю оформленого робочого зошиту студент до екзамену

не допускається

ЗМІСТ

Вступ……..…3.

Загальні вимоги до підготовки і виконання лабораторних робіт з дисципліни «Фізіологія рослин» …….. ……....4

Тема 1 ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

1.1. Клітинні мембрани, дифузія речовин. …… …..…8

1.2. Визначення проникності цитоплазми за дії температури та токсичних речовин…….....15

Тема 2 ОСМАТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РОСЛИННИХ КЛІТИН

Лабораторны роботи

2.1.Визначення осмотичного потенціалу клітинного соку плазмолітичним методом…… …….....17

2.2. Явище осмосу. Переміщення води за градієнтом водного потенціалу в штучній «клітинці» Траубе……...….20

Тема 3 ОБМІН РЕЧОВИН (ХІМІЧНИЙ СКЛАД РОСЛИННИХ КЛІТИН)

Лабораторні роботи

3.1 . Якісні реакції на білки……...…… ……...22

3.2. Якісні реакції на вуглеводи……...…… ……..26

3.3. Лігнін. Органічна деревино утворююча речовина. Визначення в тріcках вмісту деревини листяних і хвойних порід……..……..….26

3.4. Жири. Доказ нерозчинності жирів у воді і одержання стійкої емульсії…….. **.** 26**.**

Тема 4 Ферменти рослин

Лабораторні роботи

4.1. Визначення активності каталази в рослинному матеріалі…… …. 27

4.2. Визначення активності пероксидази у рослинному матеріалі……..….28

Тема 5 ФОТОСИНТЕЗ

Лабораторні роботи

5.1. Будова пігментів листка ……..…31

5.2 Хімічні властивості пігментів листка……..…..32

Тема 6 МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ

Лабораторні роботи

6.1. Мікрохімічний аналіз золи…….……37

6.2. . Антагонізм іонів……...……40

Тема 7 ДИХАННЯ

Лабораторні роботи

7.1. Визначення інтенсивності дихання……..…43

7.2. Визначення дихального коефіцієнта у різних рослин…….

Тема 8 Водний обмін

Лабораторні роботи

8.1. Визначення стану продихів методом інфільтрації (за Г.Молішем**)**……..47

8.2. Вплив концентрації розчину на проростання насіння ……47

8.3. Визначення інтенсивності транспірації та відносної транспірації ваговим методом……47

Тема 9 Ріст і розвиток

Лабораторні роботи

9.1. Перетворення речовин під час пророст.ання насіння…….51

Тема 10 Стійкість рослин до несприятливих умов зовнішнього середовища……..54

Лабораторні роботи

10.1. Визначення жаростійкості рослин (за Ф.Ф. Мацковим)……54

10.2. . Визначення водного дефіциту рослин……. ……..5

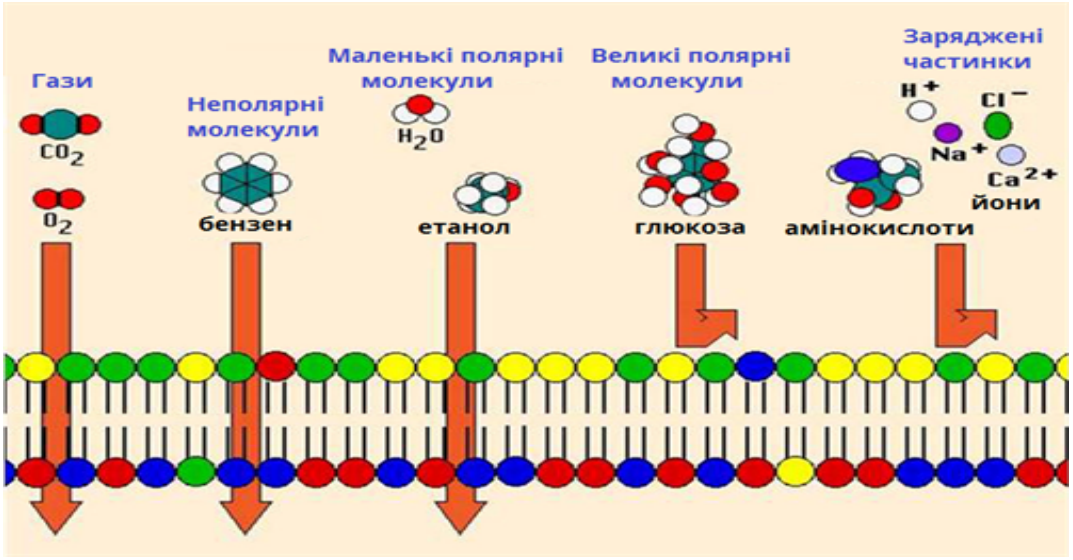
ТЕМА 1. ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

Розпочинаючи вивчення цієї теми, необхідно добре уявити суть життя та характерні ознаки живих рослин. Вивчаючи структурну і функціональну організацію рослинної клітини, будову біологічної мембрани, зверніть увагу на відмінності в структурних особливостях різних біологічних мембран від яких залежать функціональні властивості тих чи інших органел рослинної

клітини. Проаналізуйте абіотичні та біотичні фактори, які можуть впливати на порушення структури біологічних мембран, а також наслідки, які можуть наступити після впливу цих факторів в клітині та рослині в цілому.

Вивчіть осмотичні властивості клітини, зверніть увагу на можливість використання осмотичного потенціалу рослинних клітин для подальшого використання практичних навичок у сільськогосподарському виробництві. З'ясуйте шляхи та механізми надходження води в рослинну клітину враховуючі осмотичні властивості та функції біоколоїдів. Особливу увагу приділіть поглинанню різних речовин та транспорту їх через біологічні мембрани.

1.1. Клітинні мембрани, дифузія речовин. Будова клітинної мембрани. Типи транспорту речовин через мембрану.



Мета лабораторної роботи: Ознайомитись та вивчити будову клітинної мембрани та типи транспорту речовин через біологічну мембрану.

1. Вивчити і записати і запам'ятати складові біологічної мембрани.

2. Вивчити і замалювати транспорт речовин через мембрану.

3. Записати приклади активного та пасивного транспорту речовин і запишіть їх у висновках.

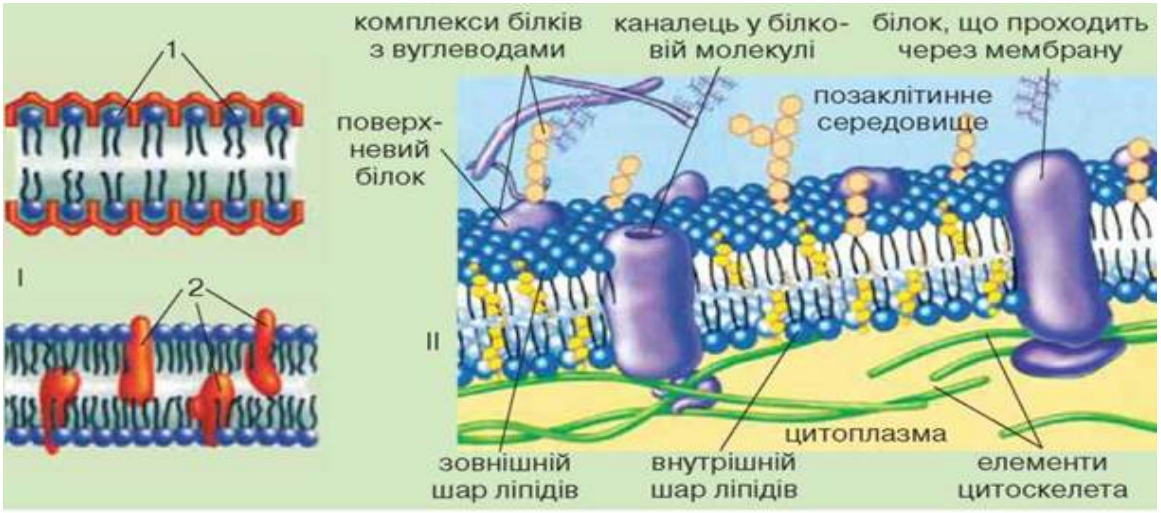
Хід роботи.

Будова біологічної (клітинної) мембрани

Усі клітини **еукаріотів** сформовані системою мембран (від лат. мембрана -шкірка, плівка), які забезпечують їхнє нормальне функціонування.

У біологічних мембранах відбуваються процеси, пов'язані зі сприйняттям інформації, яка надходить із навколишнього середовища, формуванням і передачею збудження, перетворенням енергії, захистом від проникнення хвороботворних мікроорганізмів та іншими проявами життєдіяльності клітин, органів і організму в цілому. Біологічні мембрани складаються з ліпідів, білків і вуглеводів. Ліпіди становлять приблизно 40% сухої маси мембран. Вони розташовані у два шари. Основним функціональним компонентом біологічних мембран є білки, здатні виявляти свою активність лише в комплексі з ліпідами.

Одні білки розташовані на зовнішній або на внутрішній поверхнях мембран. їх називають **поверхневими**. Вони можуть відносно легко від'єднуватись від мембран після руйнування клітин. **Білки**, заглиблені у товщу мембрани на різну глибину (вони становлять майже 70% загальної кількості білків мембран), називають **внутрішніми.** Є білки, які перетинають мембрану наскрізь, зв'язуючи її зовнішню та внутрішню поверхні. **Вуглеводи** входять до складу мембран у вигляді комплексів із білками або ліпідами. Загальноприйнятою вважають рідинно-мозаїчну модель будови біологічних мембран (мал. 1.1.). Таку назву вона дістала тому, що близько 30% ліпідів мембран міцно пов'язані з внутрішніми білками, а інша їхня частина перебуває в рідкому стані. Тому комплекси білків і пов'язаних із ними ліпідів наче «плавають» у рідкій ліпідній масі. У молекул ліпідів, розташованих у вигляді подвійного шару, **полярні гідрофільні «головки»** обернені до зовнішнього та внутрішнього боку мембран, а **гідрофобні неполярні «хвости»- всередину**. Тому, якщо поглянути зверху на мембрану, вона нагадуватиме мозаїку, створену полярними «головками» ліпідів і молекулами білків, розташованими поверхнево або перетинаючи мембрану. Між молекулами білків або їхніми частинами часто є пори (канальці). Молекули, які входять до складу біологічних мембран, здатні пересуватись, завдяки чому за незначних пошкоджень мембрани швидко оновлюються.

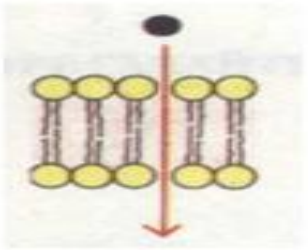


Мал. 1.1.(а) Будова плазматичної мембрани: I - схема розташування в мембрані ліпідів (1) і білків (2); II - рідинно-мозаїчна модель

Транспорт речовин через мембрану.

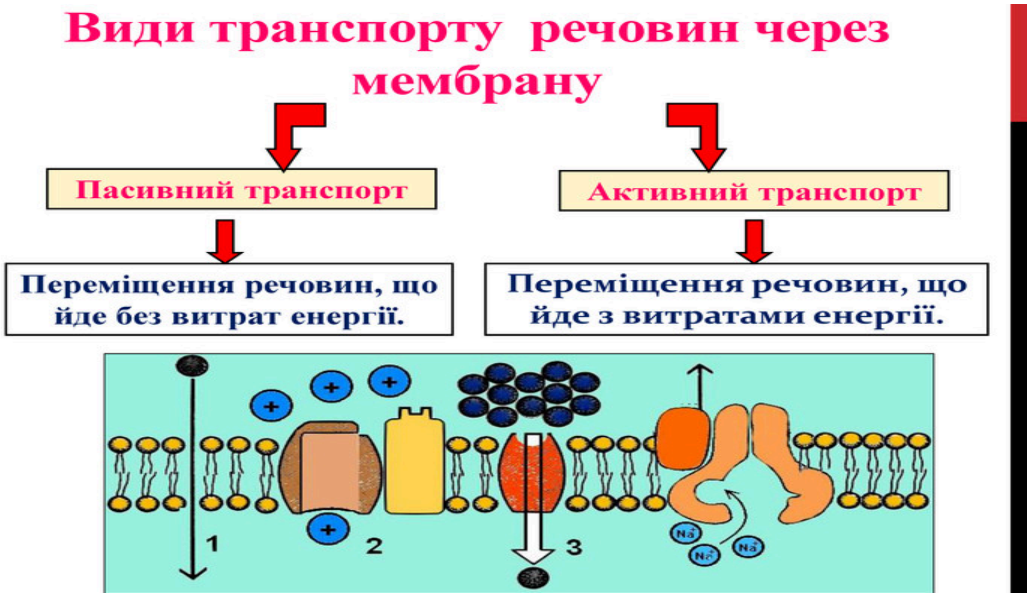
Сполуки, потрібні для життєдіяльності клітин, а також продукти обміну речовин перетинають плазматичну мембрану за допомогою **дифузії** (мал. 1.1.(б)), пасивного чи активного транспорту. Нагадаймо, що **дифузія** (від лат. диффузіо - розлиття) - процес, за якого речовини проникають крізь певні ділянки і пори мембран унаслідок їхньої різної концентрації по обидва її боки. Цей процес відбувається без витрат енергії у результаті хаотичного теплового руху молекул. Вибіркове проникнення речовин через мембрани забезпечує пасивний транспорт (мал. 1.1.(в). Для нього, як і для дифузії, характерне переміщення речовин з боку, де концентрація вища.

Пасивний транспорт забезпечується за участю рухомих мембранних білків-переносників; зміною просторової структури білків, які перетинають мембрану; та через канали у мембрані



Мал. 1.1.(б). Схема транспорту речовин через плазматичну мембрану за допомогою дифузії

Активний транспорт речовин через біологічні мембрани пов'язаний із витратами енергії, оскільки не залежить від концентрації речовин, які мають потрапити в клітину або вийти з неї (мал. 1.1.(в)). На цей процес впливає різниця концентрацій іонів калію і натрію у зовнішньому середовищі та всередині клітини. Тому його назвали калій-натріевим насосом. Концентрація іонів калію всередині клітини вища, ніж ззовні, а іонів натрію - навпаки. Завдяки цьому іони натрію пересуваються в клітину, а калію - з неї. Але концентрація цих іонів у живій клітині і поза нею ніколи не вирівнюється, оскільки існує особливий механізм, який іони натріюи«відкачує» з клітини, а калій - «закачує» в неї. Цей процес потребує витрат енергії.



Мал. 1.1. (в) Схема видів транспорту речовин пасивного та активного.

1.2. Визначення осмотичного потенціалу клітинного соку плазмолітичним методом

Концентрацію клітинного соку, який є розчином різноманітних органічних і неорганічних сполук, можна визначити за його осмотичним потенціалом. Плазмолітичний метод визначення цього важливого цитофізіологічного показника полягає в тому, що зрізи рослинних тканин занурюють у розчини осмолітика різної концентрації і згодом досліджують їх під мікроскопом для визначення концентрації ізотонічного розчину. Оскільки плазмоліз відбувається лише в гіпертонічних розчинах, знаходять таку концентрацію, за якої початкова стадія плазмолізу спостерігається не менше ніж у 50 % клітин досліджуваної тканини. Концентрація ізотонічного розчину обчислюється як середнє арифметичне між концентрацією гіпертонічного та гіпотонічного розчинів.

Мета роботи: Визначення величини осмотичного тиску у рослин різних екологічних груп.

Матеріали, реактиви, обладнання. Листки елодеї, традесканції, луски синьої цибулі, капусти; 1 М розчин NaCl або сахарози, дистильована вода; піпетки, пробірки, олівці по склу, леза, фільтрувальний папір, мікроскопи, предметні стекла та накривні скельця, препарувальні голки.

Хід роботи

1. Приготувати по 5 мл розчинів NaCl або сахарози різних концентрацій від 0,1 до 0,7 моль/л змішуванням відповідних об’ємів вихідного 1 М розчину води (табл.). Примітка. Розчини зберігають у пронумерованих маленьких баночках, пробірках, інших зручних посудинах.

2. Безпечним лезом виготовити 14 тонких зрізів із опуклої сторони луски синьої цибулі, з листків червоноголової капусти або інших об’єктів досліджень.

3. Зрізи пензликом перенести на 1÷2 хв. в охолоджену кип’ячену воду для видалення бульбашок повітря і поступово, з інтервалом 2÷3 хв., занурити у розчини плазмолітика різної концентрації та експонувати їх протягом 20÷30 хв.

Проявом осмотичних і життєздатних властивостей рослинних клітин є властиве їм явище **плазмолізу** та **деплазмолізу**. Плазмоліз можна спричинити, помістивши клітини в гіпертонічний розчин, тобто розчин, концентрація якого більша, ніж у вакуолярного соку. Внаслідок цього більш концентрований зовнішній розчин відбирає воду від вакуолі, об'єм якої зменшується, і шар цитоплазми, що був притиснутий вакуолею до оболонки, відстає від неї. Плазмоліз найкраще спостерігати у рослин із забарвленим клітинним соком, оскільки сама цитоплазма безбарвна. Тому для роботи краще використовувати епідерму синьо забарвлених лусок цибулі, червоної капусти, традесканції, листки елодеї та валіснерії.

Плазмолітичний метод визначення цього важливого фізіологічного показника полягає в тому, що зрізи рослинних тканин занурюють у розчини плазмолітика (розчини, які викликають явище плазмолізу в клітинах) певної концентрації і згодом досліджують їх дію на клітини різних рослин під мікроскопом, для визначення інтенсивності проходження явища плазмолізу. Розчини, які викликатимуть явище плазмолізу (**плазмолітики)** можна приготувати в різних концентраціях, щоб зрозуміти різницю які існують в природі види розчинів по відношенню до рослинної клітини (гіпертонічний, гіпотонічний та ізотонічний). Оскільки плазмоліз відбувається лише в гіпертонічних розчинах (тиск діючого розчину більше ніж в росл.клітині), після отримання необхідного результату визначають час виникнення плазмолізу в різних плазмолітиках і замальовують побачене під мікроскопом у робочій зошит.

Мета роботи: Ознайомитися з явищем плазмолізу й деплазмолізу, визначити потрібні для цього умови і значення цих явищ у процесах життєдіяльності рослинних клітин. Визначення величини явища плазмолізу у рослин різних екологічних груп.

Матеріали, реактиви, обладнання. Листки елодеї, традесканції, луски синьої цибулі, капусти; 1 М розчин NaCl або сахарози, дистильована вода; піпетки, пробірки, олівці по склу, леза, фільтрувальний папір, мікроскопи, предметні стекла та накривні скельця, препарувальні голки.

Хід роботи

Виготовляють тоненький зріз шкірочки синьої цибулі або листка елодеї чи традисканції, вміщують його в краплину води на предметне скло і накривають скельцем. Виготовлений препарат спочатку розглядають при малому збільшенні (8х), під час якого вибирають місце з добре забарвленими клітинами. Потім беруть смужку фільтрувального паперу і

прикладають її до краю накривного скельця, а з протилежного боку піпеткою опускають кілька крапель 1 М розчину сахарози чи сольового розчину. Розглядають препарат під мікроскопом. В результаті адсорбції води папером під накривне скельце надходить розчин плазмолітика. Через 1–3 хв протоплазма починає відставати від оболонки спочатку по кутах клітини, спостерігається так званий угнутий плазмоліз. З часом відставання цитоплазми збільшується, аж поки весь протопласт повністю не відстане від оболонки і не округлиться. В цьому випадку спостерігається опукла форма плазмолізу.

Форма плазмолізу залежить від в'язкості протоплазми. У молодих клітин, які мають велику в'язкість, як правило, різні форми плазмолізу виявляються дуже добре. У дорослих клітин таке явище спостерігається значно рідше, оскільки в результаті низької в'язкості протоплазми під дією плазмолізу відразу ж настає опуклий плазмоліз.

Залежно від різниці концентрацій внутрішнього і зовнішнього розчинів і тривалості процесу проявляються різні форми плазмолізу: кутовий, увігнутий, судомний, опуклий (рис. 1.2). Кутовий плазмоліз проявляється у формі відходження протопласта від клітинної оболонки тільки по її кутах. При увігнутому плазмоліз протопласт залишається в зіткненні з клітинної оболонкою в деяких місцях; різко вираженою його формою є судомний плазмоліз. Найглибша стадія - опуклий плазмоліз - настає, коли протопласт відходить від оболонки повністю і приймає вид грудочки з опуклою поверхнею. Часто на останній стадії видно найтонші нитки протопласта («нитки Гехта»), що з'єднують останній із стінками клітини (рис. 1.2.)

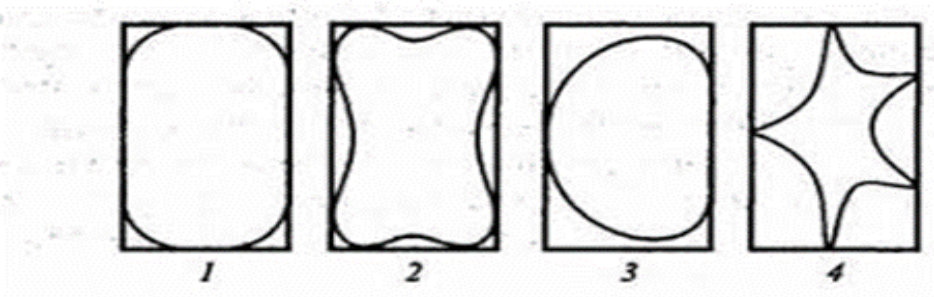


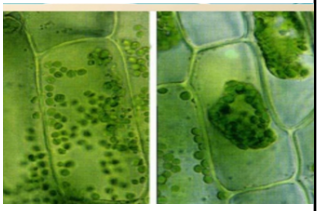
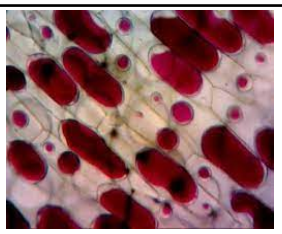
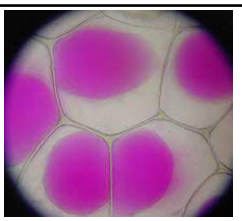
Рис.1.2. Форми плазмолізу.

1 – кутовий, 2 – увігнутий, 3 – опуклий, 4 судомний

Щоб виявити явище деплазмолізу, беруть препарат з плазмолізованими клітинами, прикладають до накривного скельця смужку паперу, а з другого боку скельця піпеткою опускають кілька крапель води. Концентрація в

клітинах вища, ніж зовні, а тому рідина рухається в напрямку до більшої концентрації. При цьому цитоплазма насичуватиметься водою і займе попереднє положення – настає деплазмоліз. Необхідно роздивитися рослинні клітини з різними формами плазмолізу і записати висновки. Необхідно також сформулювати висновок про причини і наслідки плазмолізу та деплазмолізу в рослинних клітинах.

Таблиця 1.2. Визначення інтенсивності плазмолізу у різних типів рослин

	Елодея	Червона цибуля	Традесканція
Плазмолітики			
Дист вода			
Na CL			
HNO3	?	?	
Сахароза			

Замалюйте у пустих містах як виглядатиме плазмоліз при дії на рослинні клітини різних речовин (плазмолітиків) , чи буде він відбуватися?

Висновки:_____

_____

1.3. 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 NaCL, кипляча вода.

Об’єкт дослідження: коренеплоди червоного буряку.

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, нуклеопротеїди. Протоплазма – це не тільки неоднорідне, а й високоструктуроване і компартментизоване (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 кожну пробірку за схемою, наведеною в табл. 1.3.

Таблиця 1.3. Інтенсивність забарвлення розчинів та ступінь пошкодження тканин.

Варіант досліду	**Контроль, (дист. вода)(5мл.)**	**Кипляча дист. вода(5мл.)**	**30%-на оцтова к-та(5мл)**	**50%-й спирт (5мл)**
Інтенсивність забарвлення (можна вказати у % по відношенню до більш забарвленого зразка)				

Через 30 хв після початку досліду всі пробірки інтенсивно збовтують. Визначають інтенсивність забарвлення розчинів і ступінь пошкодження тканин такими термінами: слабке, середнє, сильне. Результати записують у таблицю. Для спостереження за станом клітин із диска буряка контрольного варіанта з найбільш інтенсивно забарвленим розчином роблять тонкі зрізи, розміщують їх на предметному склі в краплі 1 М розчину NaCL, накривають накривним склом і розглядають у мікроскоп.

Висновки: 1. Зробити висновки по інтенсивності забарвлення усіх розчинів Записати пояснення, чому саме така інтенсивність в різних варіантах

_____
_____

_____
_____

2. Як ви вважаєте, чи в усіх варіантах буде відбуватися явище плазмолізу чи ні? Поясніть відповідь_____

Тема 2 ОСМАТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РОСЛИННИХ КЛІТИН

2.1. Визначення ізотонічної концентрації (осмотичного тиску) клітинного соку за допомогою плазмолітичного методу

Концентрацію клітинного соку, який є розчином різноманітних органічних і неорганічних сполук, можна визначити за його осмотичним потенціалом. Плазмолітичний метод визначення цього важливого цитофізіологічного показника полягає в тому, що зрізи рослинних тканин занурюють у розчини осмолітика різної концентрації і згодом досліджують їх під мікроскопом для визначення концентрації ізотонічного розчину. Оскільки плазмоліз відбувається лише в гіпертонічних розчинах, знаходять таку концентрацію, за якої початкова стадія плазмолізу спостерігається не

менше ніж у 50 % клітин досліджуваної тканини. **Концентрація ізотонічного розчину** обчислюється як середнє арифметичне між концентрацією гіпертонічного та гіпотонічного розчинів.

Мета роботи: Визначення величини осмотичного тиску у рослин різних екологічних груп.

Матеріали, реактиви, обладнання. Листки елодеї, традесканції, луски синьої цибулі, капусти; 1 М розчин NaCl або сахарози, дистильована вода; піпетки, пробірки, олівці по склу, леза, фільтрувальний папір, мікроскопи, предметні стекла та накривні скельця, препарувальні голки.

Хід роботи

1. Приготувати по 5 мл розчинів NaCl або сахарози різних концентрацій від 0,1 до 0,7 моль/л змішуванням відповідних об'ємів вихідного 1 М розчину і води (табл. 1.). Примітка. Розчини зберігають у пронумерованих маленьких баночках, пробірках, інших зручних посудинах.

2. Безпечним лезом виготовити 14 тонких зрізів із опуклої сторони луски синьої цибулі, з листків червоноголової капусти або інших об'єктів досліджень.

3. Зрізи пензликом перенести на 1÷2 хв. в охолоджену кип'ячену воду для видалення бульбашок повітря і поступово, з інтервалом 2÷3 хв., занурити у розчини плазмолітика різної концентрації та експонувати їх протягом 20÷30 хв.

Таблиця 2.1. Визначення ізотононічної концентрації розчину плазмолітичним методом

Концентрація плазмолітика, моль/л	Ступінь плазмолізу	Для приготування 5 мл розчину	
		1М сахароза, мл	Вода, мл
0,1		**0,5**	**4,5**
0,2		**1,0**	**4,0**
0,3		**1,5**	**3,5**
0,4		**2,0**	**3,0**
0,5		**2,5**	**2,5**

0,6		**3,0**	**2,0**
0,7		**3,5**	**1,5**

Примітка. Зрізи, які виймають з кип'яченої води доцільно промокнути клаптиком фільтрувального паперу

4. Роздивитися зрізи під мікроскопом. Примітка. На предметне скло замість води наносити краплину розчину відповідного плазмолітика, в якому знаходився рослинний матеріал.

5. Послідовно роздивитися препарати з усіх розчинів, встановити, за якої концентрації помітно початкову стадію плазмолізу (гіпертонічний розчин плазмолітика), а за якої – не помітно (гіпотонічний розчин плазмолітика). Результати записати у таблицю 1.6 значками «+» та «–» .

6. Визначити величину ізотонічної концентрації розчину (середнє між гіпотонічною та гіпертонічною концентрацією), обчислити осмотичний тиск клітинного соку за рівнянням Вант - Гоффа:

P = RTCi,

де P – осмотичний тиск, в мегапаскалях, МПа; R – універсальна газова стала, 8,317·10-3 Дж/(кМоль·К); Т – абсолютна температура, 273° + t ° С (К);

С – концентрація розчину, моль/л; і – ізотонічний коефіцієнт. Для неелектролітів (сахарози) і = 1, а для розчинів електролітів (наприклад, NaCl) він має такі значення.

Табл. Значення ізотонічного коефіцієнта (і) для розчину NaCl

Концентрація NaCI моль/л	1,0	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2
Ізотонічний коефіцієнт	1,62	1,64	1,66	1,68	1,70	1,75	1,78	1,83

7. Зробити висновки.

_____
_____
_____
_____

Лабораторна робота (додаткова)

2.2. Явище осмосу. Переміщення води за градієнтом водного потенціалу в штучній «клітинці» Траубе

«**Клітинка» Траубе** — модель клітини, запропонована дослідником Траубе. Її одержують, поміщаючи кристал гексоціаноферату (II) калію K4[Fe (CN)6] або гексоціаноферату (III) калію K4[Fe (CN)6] у водний розчин CuSO4.

Навкруги кристала в результаті взаємодії солей утворюється осадкова мембрана гексоціаноферату (II) або (III) міді:

K4[Fe (CN)6]+ 2CuSO4 = Cu2[Fe (CN)6]+ 2K2SO4.

Ця мембрана проникна тільки для молекул води, але не для розчинених в ній речовин, тобто має властивість напівпроникності.

Матеріали і обладнання: 1) 0,5 % водний розчин $CuSO_4$; 2) кристали гексоціаноферату (II) калію; 3) пробірки або циліндри на 10 мл.

Хід роботи

В невеликий циліндр або пробірку наливають на 3/4 об'єму 0,5 % розчину мідного купоросу і потім на дно цієї судини опускають кристал $K_4[Fe(CN)_6]$. Мембрана утворює замкнутий мішечок, який автор досліду Траубе назвав штучною клітинкою. Напівпроникна плівка $K_4[Fe(CN)_6]$ розподіляє два розчини різної концентрації: усередині мішечка знаходиться концентрований розчин фероціаніду калію (що утворюється при розчиненні кристала солі), а зовні — розчин сульфату міді. Виникає струм води всередину мішечка, об'єм розчину фероціаніду калію збільшується, внаслідок чого мембрана розтягується. Будучи дуже тонкою, мембрана в окремих місцях розривається під дією гідростатичного тиску. В цих місцях солі знову взаємодіють, виникають нові ділянки мембрани, що призводить до нерівномірного збільшення розміру мішечка. Мішечок ростиме, поки увесь кристал не розчиниться. Подальше надходження води в мішечок призведе до розриву плівки, і вона осяде у вигляді пластівців на дно стаканчика.

Завдання: описати дослід, зробити малюнок, сформулювати висновок про механізм переміщення води через напівпроникну мембрану.

Висновки:_____
_____

_____

_____

Контрольні запитання:

1.Апопласт(визначення і фізіологічне значення).

2.Симпласт (визначення і фізіологічне значення).

3.Всисна сила і водний потенціал (визначення, фізіологічне значення)

4.Тургор, його фізіологічне значення

5.Осмотичний тиск (визначення і формула)

6.Що таке клітина Траубе?

7.Що таке осмос, його фізіологічне значення

8.У яких рослин більший осмотичний тиск клітинного соку: вирощених у темному і вологому місті(лісі) чи в степу?

9.Плазмоліз і деплазмоліз (визначення, фізіологічне значення).

10. Що таке напівпроникність біологічних мембран, їх фізіологічне значення?

12. Які бувають зовнішні розчини за осмотичними властивостями?

Тема 3. 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 приходиться 44 молекули РНК, 700 молекул білка і 7000 молекул ліпідів

3.1. Якісні реакції на білки

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

Завдвння: Замалювати як виглядає Біуретова реакція в пробірці. Поясніть певні перетворення

_____
_____

_____
_____

_____
_____

Нінгідринова реакція.

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

Завдання: Поясніть отримані результати, які саостерігалися після досліду і запишіть висновки.

_____

_____
_____
_____
_____

Реакція Фоля (зумовлена наявністю в молекулі білка сульфуровмісних амінокислот – цистину або або цистеїну

До 3 мл розчину білка добавляють 3 мл реактиву Фоля, після перемішування кип’ятять і дають відстоятися протягом декількох хвилин. Розчин охолоджують. Випадає чорний осад плюмбум (II) сульфіду. Виявлення циклічних амінокислот у складі білків

Завдання: Пояснити , чому відбувалися такі зміни та записати пояснення як висновки до досліду.

_____
_____
_____
_____
_____
_____

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.

Завдання: Пояснити у висновках, чому саме відбуваються зміни кольору.

_____
_____
_____
_____
_____

Осадження білків солями важких металів.

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

_____
_____

_____
_____
_____
_____

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.

_____
_____

3.2. Якісні реакції на вуглеводи

Реакція Тромера

У пробірку наливають 2 мл 3 %-го розчину глюкози і добавляють 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.

_____
_____
_____
_____
_____

Гідроліз крохмалю

У дві пробірки наливають по 3 мл 1 %-го розчину крохмалю. В одну з них добавляють 2 краплі концентрованої хлоридної кислоти і ставлять у киплячу водяну баню на 15 хвилин, друга пробірка – контроль. Потім у обидві пробірки добавляють 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.

_____
_____
_____
_____
_____

Реакція крохмалю з йодом

У пробірку наливають 2 мл 1 %-го розчину крохмалю і добавляють 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.

_____
_____
_____
_____
_____
_____

3.3. Визначення в тріски вмісту деревини листяних і хвойних порід (6)

В основу даного методу аналізу покладена різна будова лігніну хвойних і листяних порід і його різні кольорові реакції щодо різних реагентів. Лігнін – органічна речовина, нерегулярний полімер з розгалуженими макромолекулами, побудованими головним чином із залишків заміщених фенолоспиртів. Поряд з целюлозою є складовою частиною здерев'янілих

тканин судинних рослин. Разом з геміцелюлозою зумовлює міцність стовбурів і стебел рослин.

Для аналізу трісок за породним складом кладуть близько 50 г трісок в спеціальну ємність з монель - металевої сітки і поміщають її на 2 хв у порцеляновий стакан з 1%-м розчином перманганату калію, після чого ємність з тріскими промивають водопровідною водою під краном до зникнення забарвлення перманганату. Потім цю ж ємність занурюють на 2 хв у 12%-й розчин соляної кислоти, знову промивають водою і занурюють на 1 хв у 1%-й розчин аміаку. Після такої обробки тріски різних порід деревини набувають різного забарвлення: тріски листяних порід пурпурово-червоне, хвойних порід - світло-коричневе чи жовте. Після цього тріски сортують за кольором на дві фракції і зважують кожну з них. Вміст кожної фракції визначають за формулою:

$$x1 = A * 100 / A+B \qquad x2 = B * 100 / A+B \qquad \text{або} \quad x2 = 100 - x1,$$

де **x1** - вміст трісок листяних порід (пурпурово-червоне),%;

x2 - вміст трісок хвойних порід (світло-коричневе чи жовте),%;

A - маса трісок листяних, г

B - маса трісок хвойних порід, г.

3.4. 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 лугу (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.

Тема 4 ФЕРМЕНТИ РОСЛИН

4.1. Визначення активності каталази в рослинному матеріалі

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 (pH 6,8). дистильована вода, 0,1н H2O2, 25 %-й розчин сірчаної кислоти (H2 SO4), 0,05н розчин KMnO4.

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 одеиицю 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 сірчанокисле середовище для перманганатометричного титрування пероксиду водню. Реакція титрування йде за рівнянням:

5H2O2 + 2 KMnO4 + 3H2 SO4 → 2 MnSO4 + 5O2 + 8 H2O/

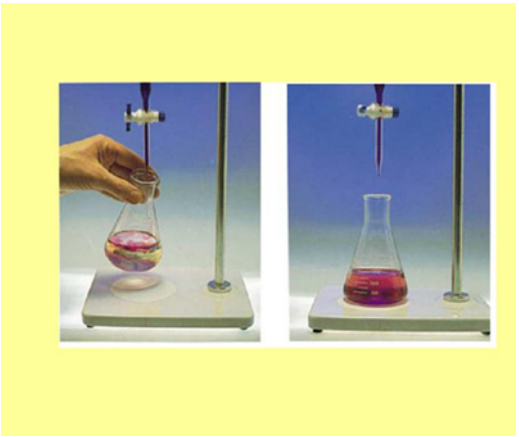
.Хід роботи: Наважку рослинного матеріалу масою 0,2г розтерти в фарфоровій ступці з невеликим об'ємом 0,05М фосфатного буфер (у pH 6,8). Розтерту масу перенести у вимірювальний циліндр на 25 мл, обёєм довести до позначки, залишити для екстракції на 10 хв. Екстракт від центрифугувати при 7000g.т

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% H2 SO4. 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% H2 SO4 для зупинки реакції. Вміст усіх колб від титрувати 0,05н KMnO4 до слабо рожевого забарвлення.

Розрахувати активність ферменту за формулою:

X = ((ТК – Тд) 50 V)/(н v· t),

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



4.2. Визначення активності пероксидази у рослинному матерілі.

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 гемопротеїни, 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, гідрохінони 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 (pH=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 pH=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 сирої маси за хвилину. Зробіть висновок про активність пероксидази у рослинному матеріал

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 обм

5. Класифікація вуглеводів, їх значення

6.Класифікація білків, їх будова і значення для живої природи.

7.Головні етапи синтезу білку в рослинах.

8.Типи структур молекули білка.

9.Денатурація білка

10.Фактори, що викликають денатурацію білка.

11.Які існують якісні реакції на білок.

12.Чи всі білки можуть давати Біуретову реакцію. Обгрунтувати відповідь.

13.Яке значення мають жири у житті рослин ?

14.Де відкладаються ліпіди у рослин?

15.Основні властивості ліпідів, їх фізіологічне значення.

16.Чим відрізняються жири і олія?

17.Що таке емульсія?

18.Які органічні речовини називають ферментами?.

19.Властивості ферментів.

20.Класифікація ферментів

21.Який хімічний склад крохмалю?

22.Чим відрізняється крохмаль та целюлоза

23.Як впливає температури на активність ферментів?

24.Ізоферменти, визначення і значення для життя рослин.

Тема 5 ФОТОСИНТЕЗ

5.1. Фотосинтезуючі пігменти , будова (отримання)

Мета: вивчити будову різних пігментів вищих рослин, виділити пігменти з листка.

Матеріали і обладнання: фарфорові ступки, етиловий спирт, фільтрувальний папір, пробірки, лійки, штатив, зелені листки різних рослин. Теоретичне обґрунтування: У природі трапляються п'ять різних типів хлорофілу, які незначно відрізняються за своєю молекулярною структурою. **Хлорофіл a** присутній у всіх водоростей і вищих рослин; **хлорофіл b** – у зелених, харових, евгленових водоростей і у вищих рослин; **хлорофіл c** – у бурих водоростей, золотистих, діатомей і дінофлагелят; **хлорофіл d** – у червоних водоростей; нарешті, є різні види бактеріохлорофілу – в фотосинтезуючих бактерій. Для синьо-зелених і червоних водоростей характерна наявність біліпротеїнів: фікоціаніну та фікоеритрину. Найкраще вивчений хлорофіл a. Його молекула складається з чотирьох пірольних кілець, з нітрогеном яких пов'язаний атом магнію, а до одного з кілець приєднаний одноатомний ненасичений спирт фітол.

Більшість рослин, що виділяють кисень, містять два різних хлорофіли, одним з яких завжди є хлорофіл a; іншим – у різних рослин є різні хлорофіли (b, c, d); у деяких випадках замість другого хлорофілу в клітині містяться біліпротеїни. Додатковими рецепторами світлової енергії, що також входять до складу фотосинтетичних мембран, є жовті та червоні пігменти – каротиноїди. Вони відрізняються від хлорофілу за положенням максимумів поглинання видимої частини спектра. Припускають також, що каротиноїди виконують захисну функцію, запобігають розпаду хлорофілу під дією молекулярного кисню. Таким чином у клітинах рослин фотосинтезуючі пігменти поділяються:

а)основні: хлорофіли a, b, c1, c2, d;

б) додаткові: каротиноїди, фікобіліни**.**

Хід роботи

Фотосинтезуючі пігменти міцно вбудовуються в мембрану хлоропластів. У зв’язку з чим для виділення пігментів використовують методи, що дозволяють зруйнувати як клітину в цілому, так і окремі клітинні органели. Для руйнування тканин листка, а також для руйнування хлоропластів, де містяться пігменти, наважку листків (0,2 г) розтирають у ступці з битим склом до утворення однорідної зеленої маси. Для нейтралізації кислот клітинного соку додають $CaCO3$ (на кінчику ланцета). При розтиранні використовують 10 мл етилового спирту, який добавляють до маси поступово. Після цього за допомогою фільтрувального паперу, лійки та скляної палички масу фільтрують у пробірку. Витяжка пігментів повинна мати яскраво зелений колір та не містити осаду. В другій ступці розтирають листки з водою. Для руйнування тканин також додають невелику кількість битого скла. Однорідну масу фільтрують у пробірку. Отримані витяжки поміщають на світло та уважно розглядають. Роблять висновок про здатність

пігментів до розчинення в різних розчинниках та утворення справжніх і колоїдних розчинів.. Будова пігментів листка

5.2 Хімічні властивості пігментів листка

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 склянній паличці на паперовий фільтр, розташований на пробірці. Отримують прозорий зелений розчин суміші пігментів.

Розподіл пігментів за методом Крауса

В основі методу лежать хімічні властивості пігментів по-різному розчинятись 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.

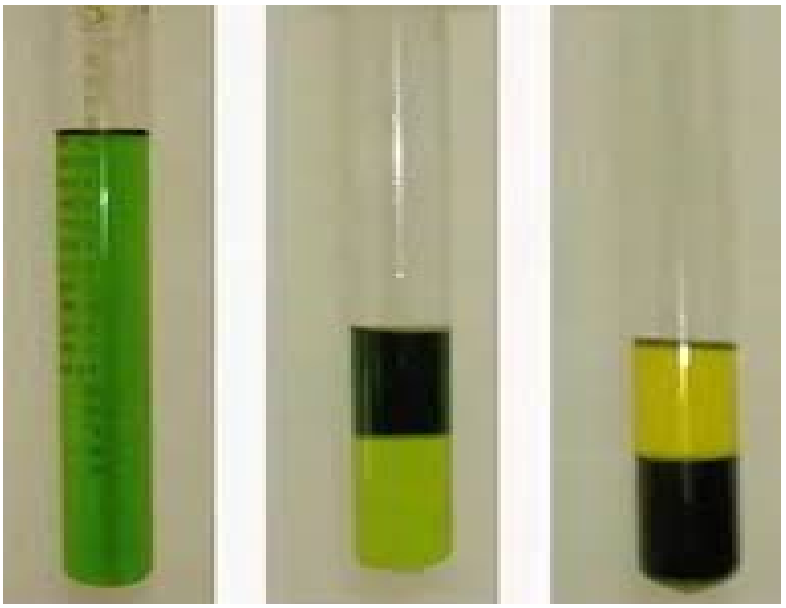


Рис.5.2. Розподыл пыгментыв за методом Крауса

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 CH3 OH і фітолу C20 H39 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): COOCH3 C32 H30ON4Mg + 2KOH COOC20H39 COOK C32H30ON4Mg + C20H39OH + CH3OH COOK

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

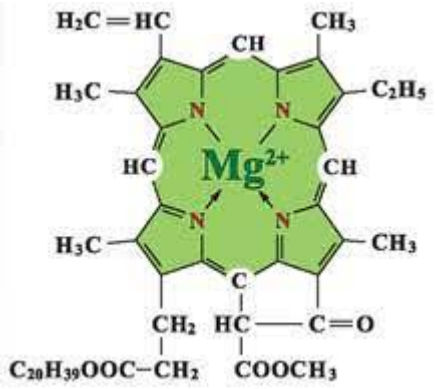
Хід роботи

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.

Добування феофітину і зворотна заміна гідрогену атомом металу

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

$C_{55}H_{72}O_5N_4Mg + 2HCl \rightarrow C_{55}H_{72}O_5N_4H_2 + MgCl_2$



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.

Розподіл пігментів адсорбційнім хроматографічнім методом

Мета роботи. Ознайомитись з адсорбційнім хроматографічнім методом розподілу компонентів із суміші пігментів.

Матеріали, реактиви, обладнання. Спиртовий екстракт пігментів з лі-стків різніх рослин, фільтрувальній папір, хімічні склянки, чашки Петрі, ножиці.

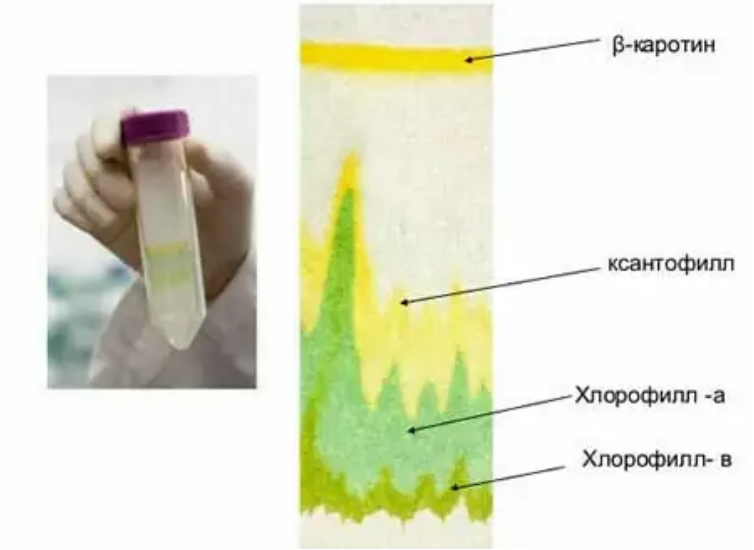
Вперше швидкий метод розподілу окремих компонентів із суміші фотосінтезуючіх пігментів запропонував у 1904 году М.С.Цвєт Шляхом адсорбційної хроматографії на колонках. Адсорбційна хроматографія грунтується на властивості речовини, Які зазнають розподілу, вібірково адсорбуватіся з Розчинник на твердому порошкоподібному адсорбенті. Вона у свою черго поділяється на молекулярному та іонообмінну. Для розподілу досліджувану суміш пропускають крізь колонку, наповнену адсорбентом (сахароза, карбонатом кальцію, клітковіною Крохмаль, сілікагелем та ін.). Компоненти Суміші адсорбуються на матеріалі колонки под дією молекулярних сил. Для шкірного компоненту Суміші ці сили неоднакові, тому, коли суміш пропускають крізь кулю сорбенту, Різні ее компоненти розташовуються в колонці сорбенту у вігляді окрем зон з різнім Забарвлення. Отже, ВСІ компоненти досліджуваної Суміші перелогових від відносної адсорбційної спорідненості до сорбенту утворюватимуться певний адсорбційній ряд

Хід роботи

Цей метод розділення пігментів Заснований на різних щаблях поглинання пігментів адсорбуючими речовинами. Такою Речовиною може виступати фільтрувальній 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 пігменті адсорбуються сильніше, того 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 а 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. Фотофосфорилювання – 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. 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 хлорофіл

Тема 6 Мінеральне живлення рослин

6.1. 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 $см^3$ 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 одно заміщеного $NaHC_4H_4O_6$ з нейтральним розчином солей калію утворює кристали тартрату калію одно заміщеного $KHC_4H_4O_6$ у вигляді великих призм і пластинок. Для реакції використовують водний розчин, який обов'язково доводять до нейтрального pH, оскільки кристали тартрату калію одно заміщеного добре розчиняються в кислотах і лугах. (рис).

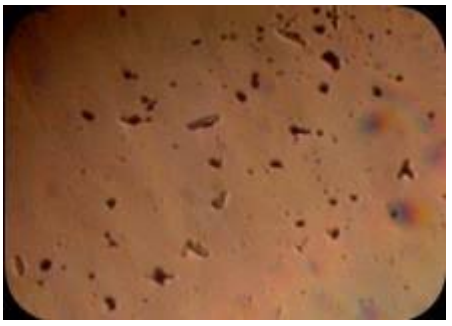
Виявлення кальцію. Для реакцій на кальцій і наступні елементи використовують кислотну витяжку золи. • Реактив – сірчана кислота. Відбувається реакція: CaCl2 + H2SO4 → CaSO4 + 2 HCl. У результаті реакції утворюються характерні довгі тонкі голки гідратованого сульфату кальцію $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ (гіпс), потім голки об'єднуються в структури, що нагадують сніжинки, які накопичуються одна на одну (рис.). Голки можуть переходити в тонкі призми та маси пластинок, що накопичуються одна на 26 іншу. • Реактив – щавлева кислота. У результаті реакції випадають кристали оксалату кальцію ($CaC_2O_4 \cdot 3H_2O$) у вигляді октаедрів, 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: $MgCl_2 + Na_2HPO_4 + NH_3 \rightarrow NH_4MgPO_4 + 2NaCl$. У результаті реакції утворюються кристали фосфорно-аміачно-магнезіальної солі у вигляді кришечок, сніжинок, крил, квадратів, прямокутників, зірок (рис.4)

Виявлення заліза. • Реактив – жовта кров'яна сіль $K_4Fe(CN)_6$. 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: $4FeCl_3 + 3K_4Fe(CN)_6 \rightarrow Fe4[Fe(CN)_6]_3 + 12KCl$. Наявність заліза визначають за утворенням берлінської лазурі 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 мікроскопа. Препарат розглянути під мікроскопом без накривного скельця (об'єктив х8, х10, окуляр х15)

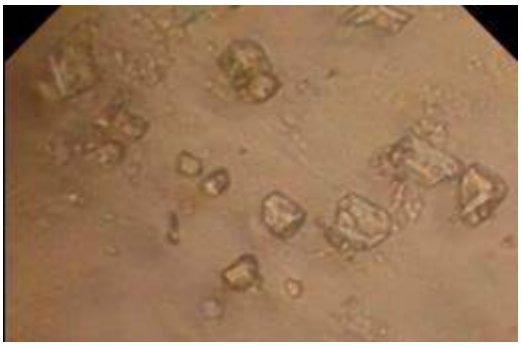
Результати мікрохімічного аналізу записати у таблицю 6.1.

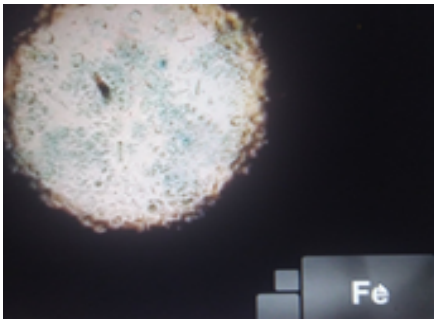
Елемент	**Витяжка золи (водна, кислотна)**	**Реактив**	**Хімічна реакція**	**Результат реакції (форма, розмір кристалів, колір розчину тощо)**

Ca



S





Mg **Fe**

6.2. Антагонізм іонів.

Матеріали та обладнання: 0,1М і 0,5М розчин NaCI, KCI, $CaCI_2$, $MgCI_2$, 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 коагулюючи 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.

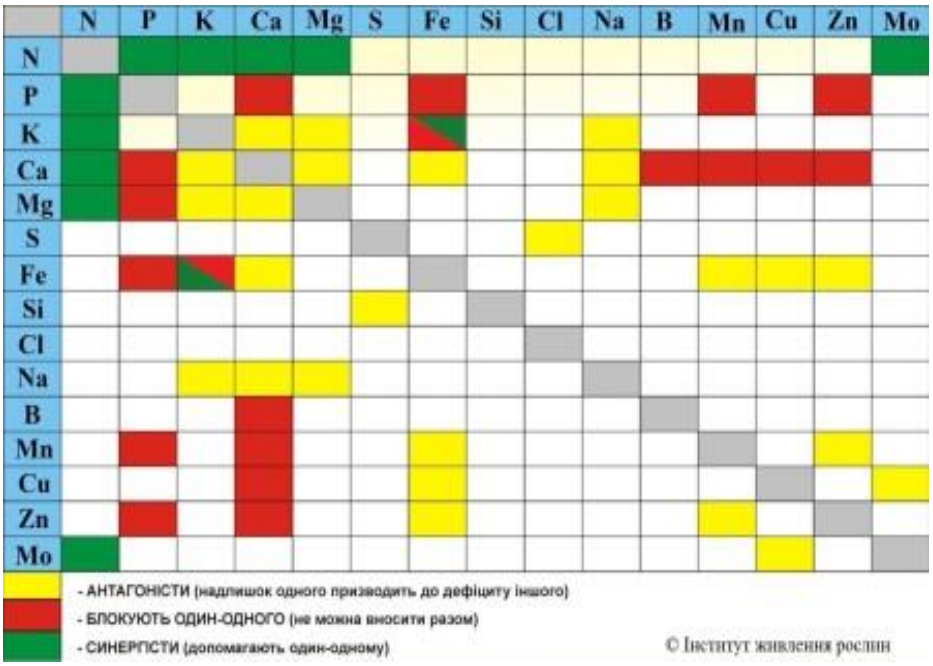
Хід роботи: Приготувати окремі розчини хлоридів натрію, калію, кальцію і магнію у двох концентраціях (0,1М і 0,5М), а також суміші 0,1М і 0,5М солей.Налити у дві пробірки чистий розчин або суміш солей згідно зі схемою досліду(табл.4.5.). Суміш приготувати в окремих стаканах, доливаючи циліндром по 10 мл розчину кожної з чотирьох солей певної концентрації. На верхню частину пробірок милом наклеяти етикетки з необхідним реквізитом (факультет, група, прізвище виконавця, розчин солі, концентрація).

6.2. Дослідження впливу антагонізму іонів на ріст проростків пшениці.

Прізвище виконавця	Розчин солей	Концентрація, М	Довжина, мм	
			коренів	пагонів
	NaCI	**0,1**		
	KCI	**0,1**		
	$CaCI_2$	**0,1**		
	$MgCI_2$	**0,1**		
	Суміш солей	**0,1**		
	NaCI	**0,5**		
	KCI	**0,5**		
	$CaCI_2$	**0,5**		
	$MgCI_2$	**0,5**		
	Суміш солей	**0,5**		
	Вода			

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 розчін. Протягом досліду треба доливати воду у пробірки. За тиждень заміряти довжину органів і корінців кожного проростка. Середній результат записати у табл.. 6.2. і зробити висновки.

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 (К+, Са2+, 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 7 Дихання

7.1. Визначення дихального коефіцієнта у різних рослин

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

$C_6 H_{12} O_6 + 6H_2O$ --- → $6CO_2 + 12H_2$; •

для окиснення водню $12H_2 + 6O_2 = 12H_2O$; •

сумарне рівняння $C_6 H_{12} O_6 + 6O_2$ -- → $6CO_2 + 6H_2O$.

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, $C_3 H_4 O_3$ – піровиноградна чи $C_4 H_6 O_5$ – яблунева кислоти), то коефіцієнт дихання буде більшим за одиницю, а саме - 1,20 або 1,33 відповідно: $C_3 H_4 O_3 + 5O_2 = 6CO_2 + 4H_2O$;

$C_4 H_6 O_5 + 3O_2 = 4CO_2 + 3H_2O$.

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 C18 H36 O2 + 26O2 = 18CO2 + 18H2O, 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 CO2 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 O2, що поглинається, і об'єм CO2, 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. 170 171

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 її 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 = O2 – CO2 .

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.

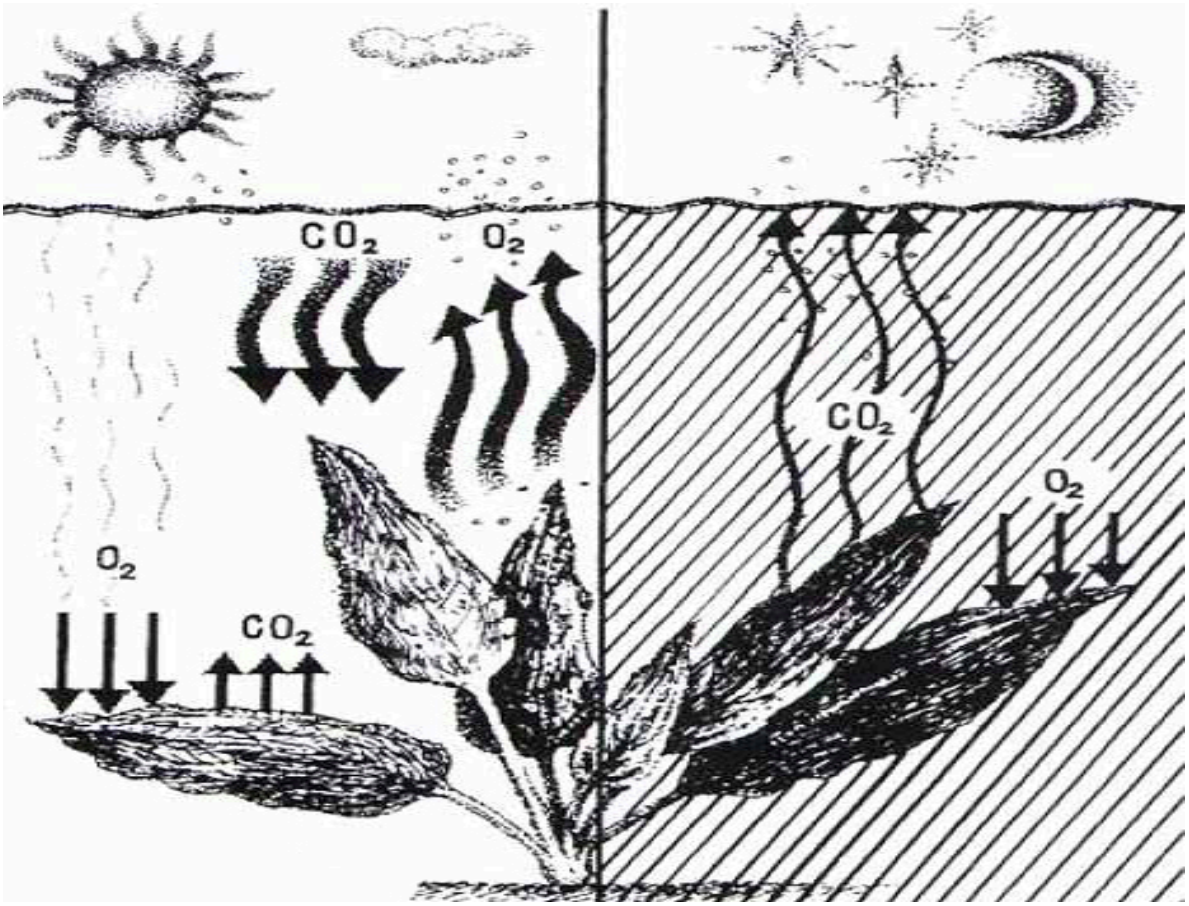
12.Вирахувати їхню середню величину (В), що відповідає об’єму поглинутого під час дихання кисню.

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: А = $O_2 – CO_2$; В = O_2; CO_2 = В – А, звідси: ДК = В-А/В. Результати записати у таблицю 5.1.

7.1.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.



Контрольні запитання та завдання

1.Що таке інтенсивність дихання?

2.Назвіть основні фактори, що впливають на інтенсивність дихання.

3.Від яких факторів залежить значення дихального коефіцієнта?

4.Які існують зв’язки між інтенсивністю дихання та якістю рослинної продукції?

5.Який зв’язок між величиною дихального коефіцієнта й енергетичною ефективністю дихання?

6.Як пояснити різну величину дихального коефіцієнта проростаючого насіння крохмальних та олійних рослин?

7.Чому вищі рослини не можуть тривалий час підтримувати своє життя в анаеробних умовах, хоча й не гинуть відразу за дефіциту О2 ?

8.Як різняться між собою величини дихальних коефіцієнтів вищих та нижчих рослин?

9.Яке фізіологічне значення дихання у рослинних організмах?

10.Як змінюється інтенсивність дихання рослин в несприятливих умовах?

Тема 8. ВОДНИЙ ОБМІН

8.1. Визначення стану продихів методом інфільтрації (за Г.Молішем)

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. 86 Об'єкт дослідження: листя герані (Pelargonium zonale).

Хід роботи: На нижні сторони листів рослин, які ростуть при різної 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 , відзначаючи проникнення рідини знаком «+», а відсутність проникнення знаком «-», зробити висновок.

Таблиця 8.1. Ступінь розкриття продихів листків рослин

Рослини	Інфільтрація розчінника з певного боку листа					
	Абс. спирт		Бензол		Ксилол	
	низ	верх	низ	верх	низ	верх

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

8.2. Вплив концентрації розчину на проростання насіння .

Одним з факторів, що впливають на надходження води в рослину, є концентрація солей в грунті, 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).

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.
Матеріали та обладнання: насіння пшениці, 1М розчин хлористого натрію, пінцет, чашки Петрі, пісок, папір, міліметровий папір. 89 Питання і завдання для самоконтр

8.3. Визначення інтенсивності транспірації та відносної транспірації ваговим методом

Транспірація (випаровування води рослинами) вимірюється кількістю випаруваної води одиницею листкової поверхні за одиницю часу. Величина транспірації залежить від багатьох факторів (температури, освітлення, водопостачання тощо), а також змінюється впродовж доби в межах 10÷300 г·м-2 год-1. 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. 58 59 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 листкової пластинки (см2).

4. Визначити площу поверхні листка. Для цього вирізати з паперу квадрат площею 100 см2 (10х10 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 Т (в г ·м-2·год-1) за формулою: де С – 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 (Е). Для цього встановити кількість випаруваної води за 1 год з поверхні чашки Петрі. Площу поверхні чашки Петрі підрахувати за формулою: $S = \pi r2$. 7. Розрахувати Е 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.

9. Результати дослідів записати в таблиці. Таблиця.

6.2. Визначення інтенсивності транспірації ваговим методом

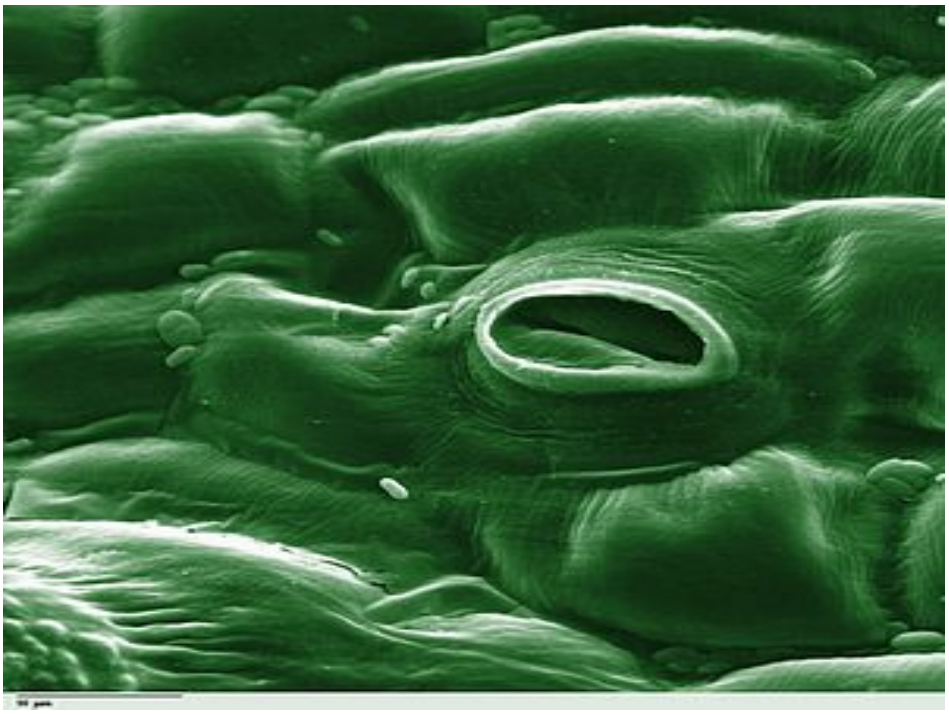


Рис. Продихи рослин

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. Ніжній 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 9. РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН

9.1. 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, гороху), а те, в якому жири переважають над вуглеводами – олійним (наприклад, насіння рицини, соняшника, ріпака). 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 непроростого та проростого 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.

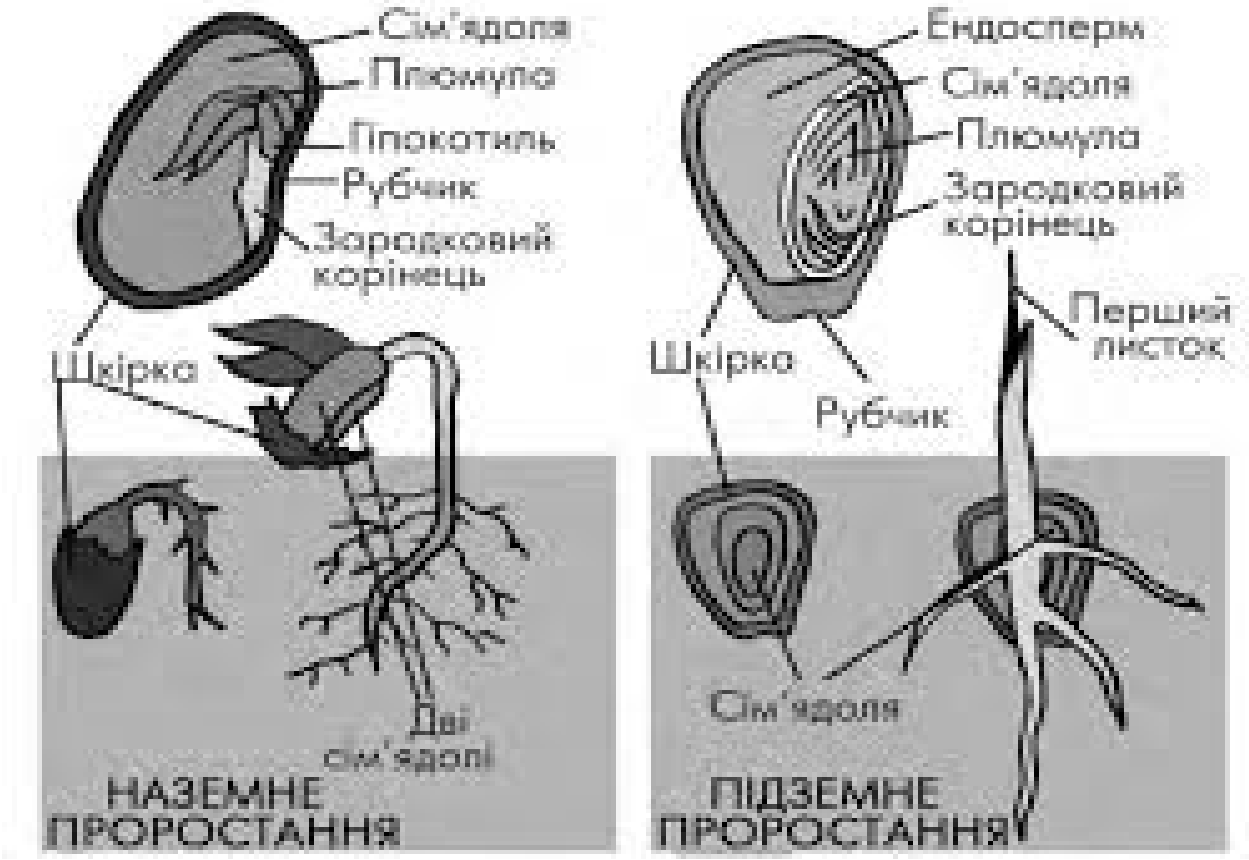
Хід роботи

Розтирають у чотирьох ступках по 10 непроростих і проростих насінин пшениці та соняшнику. 2. 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. 3. Зливають витяжки у чисті підписані пробірки, доливають рівний об'єм рідини Фелінга та витримують 5 хв на киплячій водяній бані. 4. За кількістю Cu2O, що утворився, оцінюють вміст редукуючих цукрів. 43 5. До залишку матеріалу у пробірках першої групи доливають розчин йоду і за інтенсивністю посиніння оцінюють вміст крохмалю. 6. Роблять тонкі зрізи проростого і непроростого насіння соняшнику, поміщають їх на предметні стекла в краплі розчину фарби судан III і накривають накривними скельцями. 7. 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 9.1, оцінюючи вміст крохмалю, цукру та жиру за п'ятибальною шкалою.

Таблиця 9.1. Перетворення речовин під час проростання насіння

Насіння		Крохмаль	Редукуючі жири	Жири
Крохмальне	сухе			
	проросле			
Олійне	сухе			
	проросле			

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



Контрольні питання

1.Поняття ріст. Клітинна основа росту.

2. Фітогормональна система рослини. Поняття про фітогормони. Класифікація фітогормонів.

3. Залежність росту від зовнішніх факторів.

4. Поняття розвиток. Регуляція розвитку рослин.

5. Фотоперіодизм, біологічне значення.

6. Цвітіння. Основні етапи цвітіння.

7. Вегетативне розмноження.

8. Старіння (клітини, органу, організму). Механізми, індукуючі старіння

Тема 10 СТІЙКІСТЬ РОСЛИН ДО НЕСПРИЯТЛИВИХ УМОВ ЗОВНІШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

10.1. .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 450 °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 10.1. , відмічаючи: відсутність побуріння знаком «–», незначне побуріння – «+», побуріння понад 50 % площі листка – «++», повне побуріння – «+++».

Таблиця 10.1 Результати стану рослин після досліду

Рослини	Стан рослин після дії t^0C					
	30	40	45	50	55	60

10.2. 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 (m_1). Висушити висічки при $+105^0C$ протягом трьох годин і зважити (а). Визначити водний дефіцит рослин за рівнянням:

$$\mathbf{W = m_1 - m / m_1 – a,}$$

де W – водний дефіцит, %; **а** – абсолютна суха маса висічок, мг; **m** – маса висічок до занурення у воду, мг; $\mathbf{m_1}$ – маса висічок після насичення водою, мг. Результати досліду записати в таблицю.10.2.

Табл.10.2.Розрахунок водного дефіциту рослин

Рослини	Маса висічок листків,мг			Водний дефіцит W,%
	до замочування водою, **m**	після насичення водою, $\mathbf{m_1}$	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.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Злобін Ю. А. Курс фізіології і біохімії рослин / Ю. А. Злобін. - Суми: «Університетська книга», 2004. - 463 с.
2. Колупаєв Ю.Є. Основи фізіології стійкості рослин: Курс лекцій. – Х.: Міськдрук, 2010.-121 с.
3. Лугова Г.А. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Фізіологія рослин з основами біохімії» Державний біотехнологічний університет . Х.: ДБТУ, 2024. 89с.
4. Лугова Г.А. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Фізіологія рослин» для студентів спеціальностей «Лісове господарство» і «Садово–паркове господарство» першого (бакалаврського) рівня вищої освіти. Державний біотехнологічний університет, Харків 2024. 102 с.
5. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин: підручник (для студентів вищ. навч. закл..)/Мусієнко. -К.:Фітосоціоцентр, 2001.-392с.
6. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Технологія целюлози» .Визначення в тріcках вмісту деревени листяних і хвойних порід. / Примаков С.П., Антоненко Л.П. и др.. Київський політехнічний інститут. Київ 2003
7. Фізіологія рослин з основами біохімії / [М. М. Макрушин, Є. М. Макрушина, Н. В. Петерсон, В. С. Цибулько]; під ред. М. М. Макрушина. - Київ: Урожай, 1995. - 352 с.
8. Фізіологія рослин: практикум / [О. В.Брайон, В. Г.Чикаленко, П. С. Славний та ін.] – К. : Вища школа, 1995. – 191 с
9. . Фізіологія рослин: практикум / [О. В. Войцехівська, А. В . Капустян, О. І. Косик та ін.]; за заг. ред. Т.В. Паршикової. – Луцьк : Терен, 2010. – 420 с
10. Самойленко Т.Г, Самойленко М.О., Рожок О.Ф. Практикум з фізіології рослин.- Миколаїв: МНАУ, 2013.—413с.

Навчальне видання

ЛУГОВА Ганна Арнольдівна

ГАВВА Катерина Миколаївна

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

Робочий зошит

Формат 60х84/16. Гарнітура Times New Roman

Папір для цифрового друку. Друк ризографічний.

Ум. друк. арк._.

Наклад ___пр.

Державний біотехнологічний університет

61002, м. Харків, вул. Алчевських, 44